FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1955 N° 258

Micro électrophorèse sur papier du sérum de l'adulte normal

(Protéines, Glyco et Lipoprotéines)

ÉTUDE STATISTIQUE

THÈSE

présentée à la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon
et soutenue publiquement le lundi 28 novembre 1955
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

PAR

TIZZANI René-Jean

né le 8 Juin 1926
à LYON (Rhône)

IMPRIMERIE ALLIER
26, Cours Jean-Jaurès
GRENOBLE

1955

Micro électrophorèse sur papier du sérum de l'adulte normal

(Protéines, Glyco et Lipoprotéines)

Étude statistique

Doyen honoraire	M. J. LEPINE
Doyen	M. H. HERMANN
Assesseur	M. J. GATE

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. NICOLAS, COLLET, CLUZET, BERARD, GUIART, PIERY, CADE, PATEL, LEPINE, SAVY, TRILLAT, LERICHE, MOURIQUAND, MAZEL, LEULIER, GARIN.

PROFESSEURS

Clinique médicale A	MM. FROMENT
Clinique médicale B	P.-RAVAULT
Clinique chirurgicale A	SANTY
Clinique chirurgicale B	WERTHEIMER
Clinique ophtalmologique	BONNET
Clinique urologique	CIBERT
Clinique et prophylaxie de la tuberculose	DUFOURT
Clinique dermatologique et syphiligraphique	GATE
Clinique neuro-psychiatrique et hygiène mentale	DECHAUME
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie	SEDALLIAN
Clinique de chirurgie orthopédique et chirurgie infantile	GUILLEMINET
Clinique gynécologique	POLLOSSON
Clinique obstétricale	PIGEAUD
Clinique stomatologique	DUCLOS
Clinique médicale infantile et hygiène du 1er âge	BERNHEIM
Clinique oto-rhino-laryngologique	MAYOUX
Physiologie	HERMANN
Anatomie pathologique	J. F. MARTIN
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie	PONTHUS (détaché à Beyrouth)
Thérapeutique chirurgicale et Chirurgie opératoire	ROCHET
Chimie organique et Toxicologie	CHAMBON
Pathologie générale et expérimentale	JOSSERAND
Hydrologie thérapeutique, Climatologie et Ecologie sociale	DELORE
Anatomie	GABRIELLE
Pathologie interne	CROIZAT
Chimie biologique et médicale	ENSELME
Pathologie chirurgicale	MALLET-GUY
Histologie	NOEL
Pharmacie galénique et matière médicale	REVOL
Médecine du travail	BOURRET
Thérapeutique	LEVRAT
Hygiène et action sanitaire et sociale	SOHIER
Biologie médicale et Pharmacodynamie	JOURDAN
Botanique et Cryptogamie	NETIEN
Propédeutique chirurgicale	BERTRAND
Chimie analytique pharmaceutique	BADINAND
Pharmacie et Pharmacologie	DREVON
Médecine légale et Déontologie	ROCHE
Parasitologie et Pathologie exotique	X...

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Obstétrique	MM. BANSSILLON
Physique biologique	BERGER

MAITRES DE CONFÉRENCES-AGRÉGÉS

	MM.
Parasitologie	ROMAN
Parasitologie	COUDERT
Physiologie	CIER (J.-F.)
Physiologie	CHATONNET
Chimie biologique et médicale	CREYSSEL (R.)
Bactériologie	BERTOYE (A.)
Pharmacie galénique et matière médicale	DORCHE
Anatomie	DUROUX
Pharmacie et pharmacologie	CIER (A.)
Hygiène	BENAZET
Anatomie pathologique	FEROLDI
Chimie organique et toxicologie	PERROT

AGRÉGÉS EN EXERCICE

Pathologie médicale	GALY
Pathologie médicale	GONIN
Pathologie médicale	GUINET
Pathologie médicale	PONT
Pathologie médicale	VIGNON
Pathologie médicale	REVOL
Pathologie médicale	TRAEGER
Pathologie chirurgicale	MANSUY
Pathologie chirurgicale	DARGENT
Pathologie chirurgicale	GUILLET
Pathologie chirurgicale	MARION (P.)
Pathologie chirurgicale	MICHAUD
Pathologie chirurgicale	JAUBERT de BEAUJEU
Pathologie chirurgicale	SAUTOT
Ophtalmologie	PAUFIQUE
Obstétrique	MAGNIEN
Obstétrique	MATHIEU (J.)
Obstétrique	BURTHIAULT
Oto-rhino-laryngologie	GIGNOUX
Dermato-vénéréologie	THIERS
Urologie	PERRIN
Neuro-chirurgie	LECUIRE
Orthopédie	MARION (J.)
Stomatologie	FREIDEL
Electro-radiologie	PAPILLON
Pédiatrie et puériculture	FRANÇOIS
Thérapeutique	X...
Maladies infectieuses	X...

CHARGÉ DES FONCTIONS D'AGRÉGÉ

Médecine légale	M. COLIN

CHARGÉS DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES-AGRÉGÉS

Histologie	DUMONT (L.)	Physique biologique	MORET

EXAMINATEURS DE LA THESE

M. P. CROIZAT, *Président.*

MM. BENAZET, L. REVOL, R. CREYSSEL, *Assesseurs.*

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1955 N° 258

Micro électrophorèse sur papier du sérum de l'adulte normal

(Protéines, Glyco et Lipoprotéines)

ÉTUDE STATISTIQUE

THÈSE

présentée à la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon
et soutenue publiquement le lundi 28 novembre 1955
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

PAR

TIZZANI René-Jean

né le 8 Juin 1926
à LYON (Rhône)

IMPRIMERIE ALLIER
26, Cours Jean-Jaurès
GRENOBLE

—

1955

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A MES PARENTS

En remerciement de leur bonté. Que ce travail soit pour eux une bien faible compensation de leurs sacrifices et un témoignage de notre profonde affection.

A MA FEMME

A MON FILS

A MES BEAUX-PARENTS

En témoignage de reconnaissance et d'affection.

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE,

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. CROIZAT

Chevalier de la Légion d'honneur
Professeur de Pathologie Interne

Nous le remercions de l'accueil bienveillant qu'il nous a réservé. Il nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance.

A NOS JUGES,

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ R. CREYSSEL

Maître de Conférence de Biochimie Médicale

Nous le remercions de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à notre travail, et de ses précieux conseils.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ L. REVOL

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ BENAZET

En hommage respectueux.

A Monsieur le Docteur J. GROULADE

Médecin-Chef du Laboratoire de Biochimie Médicale des Hôpitaux de Grenoble

Il nous a inspiré et permis de réaliser ce travail. Depuis trois ans il nous a initié à la Biochimie Médicale et à l'Electrophorèse, nous consacrant son temps et sa peine.

Qu'il en soit remercié, il demeurera pour nous un modèle de probité et de rigueur scientifique.

Nous voudrions que ce travail soit pour lui la preuve de notre profond attachement et de toute notre reconnaissance.

A Monsieur le Professeur agrégé R. SEIGNEURIN,

Médecin-Chef des Laboratoires de Bactériologie, Hématologie, Serologie et anatomo-pathologie des Hôpitaux de Grenoble
Directeur du Centre de Transfusion Sanguine

« Il nous a accueilli pendant deux ans dans son service. Il nous a donné toute facilité de faire, chez les donneurs du Centre de Transfusion, les prélèvements qui nous ont permis de réaliser ce travail.

Qu'il veuille bien trouver ici tous nos remerciements pour sa bienveillance à notre égard, et pour l'intérêt qu'il nous a toujours porté. »

A Mademoiselle L. FLANDRIN

Licenciée ès Sciences
Préparatrice-Chef des Laboratoires des Hôpitaux

Sa grande culture et son enthousiasme ont été un apport quotidien pour notre formation biologique.

Nous l'en remercions très sincèrement.

Au personnel du Laboratoire des Hôpitaux
et du Centre départemental de Transfusion Sanguine

A nos Maitres des Hôpitaux de Lyon et de la Faculté

A nos Maitres de l'Hôpital Saint-Joseph de Lyon (*Externat*) :

M. le Dr E. CHAUVIRE
M. le Dr R. GAILLARD
M. le Dr F. POUZET
M. le Dr P. VERRIERE
M. le Dr J. BOUVIER
M. le Dr P. BERNAY
M. le Dr J.-P. MICHEL
M. le Dr Ph. FRIEH
M. le Dr A. MESTRALLET

A nos Maitres des Hôpitaux de Grenoble (*Internat*) :

M. le Dr F. CALAS
M. le Dr R. GAUTIER
M. le Pr. R. SEIGNEURIN
M. le Dr J. GROULADE

A nos conférenciers d'Externat et d'Internat

A mes camarades d'Internat des Hôpitaux de Grenoble

INTRODUCTION

L'électrophorèse en milieu liquide a permis à de nombreux auteurs d'étudier les fractions protéiques normales et leurs variations au cours d'un grand nombre de maladies.

L'électrophorèse sur papier, méthode moins précise mais plus accessible comme méthode d'investigation biologique (2-3-13) a déjà donné lieu ces dernières années à de très nombreux travaux réalisés à l'aide de techniques et d'appareils d'une variété extraordinaire. La plupart des auteurs se sont plus particulièrement attachés à l'étude des perturbations pathologiques.

La rareté des travaux définissant avec précision les techniques, les résultats et leurs limites chez les sujets normaux, est peut-être, pour une grande part, la raison des avis divergents sur la valeur même de l'électrophorèse sur papier (79).

GROULADE et JACQUELINE, au cours de l'étude des rhumatismes inflammatoires (38) avaient déjà fait quelques séries de sujets normaux. L'étude statistique d'un groupe de malades atteints de spondylarthrite ankylosante (39) avait montré des écarts quadratiques particulièrement élevés pour les facteurs lipoprotéiques. Deux groupes peu importants d'adultes jeunes et d'âge moyen mirent en évidence des valeurs moyennes très

différentes, surtout pour les glyco et lipoprotéines exprimées en valeurs absolues.

C'est la raison pour laquelle, reprenant les mêmes techniques, nous avons entrepris de déterminer, d'une manière plus précise, les variations physiologiques des différentes fractions (protéines, glyco et lipoprotéines) exprimées en valeur absolue et en valeur relative, sous l'influence de l'âge, du sexe, de la digestion et de différents facteurs morphologiques.

Après avoir précisé les conditions expérimentales et le mode d'échantillonage, l'étude statistique des résultats obtenus sera suivie d'une discussion au cours de laquelle les résultats d'autres auteurs seront comparés aux nôtres.

TECHNIQUES

La séparation sur papier et la mise en évidence des protéines et de certains corps liés aux protéines ont provoqué, lors de leur apparition, des enthousiasmes qui ont été assez souvent déçus, car malgré son apparente facilité, cette méthode demande un ensemble de soins méticuleux.

PRINCIPE DE SEPARATION

Les protéines sériques à pH 8,6 sont chargées négativement, placées dans un champ électrique elles se déplaceront toutes vers l'anode si le point de départ est suffisamment proche de la cathode. Il existe en effet pour chaque fraction un point d'équilibre que MACHEBŒUF et ses collaborateurs ont défini par l'équation suivante (54) :

$$V = \varepsilon + e + E$$

ε représente la vitesse de déplacement électrophorétique; *e*, la vitesse du mouvement de l'eau dû à l'électroendosmose; E, la vitesse en un point déterminé du mouvement de l'eau occasionné par l'évaporation.

Les deux premiers termes peuvent être considérés comme constants mais sont de signes contraires (le

courant liquide d'électroendosmose va de l'anode vers la cathode).

Le troisième terme est nul au milieu de la bande, négatif dans la moitié de la bande qui se trouve du côté de l'anode et positif dans l'autre moitié. Il y aura donc une position d'équilibre si, à un moment donné, $\varepsilon = e + E$.

MACHEBŒUF et ses collaborateurs ont démontré la réalité de ces positions d'équilibre en faisant une trace sur une ligne fortement oblique par rapport au mode de dépôt habituel (ligne transversale) (53).

Ces auteurs ont aussi défini pour les substances non ionisées une ligne d'équilibre (π) pour laquelle $e = E$.

DREVON (18) a étudié les positions des protéines.

APPAREILLAGE

Il existe un grand nombre de types d'appareils de séparation pour l'électrophorèse sur papier qui diffèrent entre eux surtout par l'intensité des phénomènes d'évaporation.

Certains utilisent en effet au maximum ce facteur. C'est le cas de l'appareil de MACHEBŒUF et REBEYROTTE (55), de FLYNN et de MAYO (92), de DURRUM (91), de BARAT.

D'autres réduisent la chambre de séparation et opèrent en milieu plus humide. C'est le cas de l'appareil de VALMET et SVENSSON (82), de l'appareil du centre d'électrophorèse du C.N.R.S., de l'appareil de GRASSMANN, HANNIG et KNEDEL (29).

Enfin, dans un autre type d'appareil, l'évaporation est réduite au minimum par immersion de la bande de papier dans un solvant organique. C'est le cas, en particulier, de WUNDERLY (85) et de CONSDEN et

STANIER (11). KUNKEL et TISELIUS ont réduit l'évaporation en plaçant la feuille de papier entre deux plaques de verre (81).

SEPARATION ELECTROPHORETIQUE

L'appareil employé pour ce travail (32) se rapproche de celui de VALMET et SVENSSON. Le tampon employé est une solution de véronal sodé - véronal acide de DURRUM, de pH 8,6 et de force ionique 0,1.

Un seul papier a été employé : SCHLEICHER et SCHULL 2 043 a. Les bandes de 4 cm de large et de 31 cm de long sont identifiées puis imprégnées de tampon par immersion de 6 bandes à la fois. Elles sont déposées ensuite sur un papier filtre qui absorbe l'excès de liquide (on a intérêt à laisser cette opération se poursuivre pendant cinq minutes : l'imprégnation est plus régulière). Les bandes sont alors placées sur le chevalet où elles sont tendues et maintenues par capillarité sur deux surfaces planes situées à la partie la plus inférieure de chaque côté du chevalet. Le sérum est déposé en quantité telle que le poids de protéines soit constant à partir du volume de base de 7,5 mm^3 pour 72 g/l de protéines totales. S'il s'agit d'une séparation destinée à la mise en évidence des glyco ou des lipoprotéines, on dépose uniformément 40 mm^3 de sérum. Ce dépôt doit être réalisé de manière extrêmement régulière et en atteignant juste les bords du papier. Les pipettes utilisées sont du type recommandé par BENEDETTI, PICHLER et HYBBINETTE pour les protéines, et LACOURT et ses collaborateurs pour les lipides et glucides (47).

Le champ électrique est réalisé par un courant de 0,25 mA par cm de large et 6,5 volts par cm de long

pendant 7 heures ou de 0,12 mA par cm sous une tension de 4 volts par centimètre pendant 13 heures.

Au cours de l'opération la variation est comprise entre 5 et 10 % du courant initial. CARAVEL, DUCLOZ et GROULADE ont mis au point un dispositif d'alimentation à courant constant (9) qui permet de n'avoir aucune variation d'intensité pendant toute la durée de l'opération.

Lorsque l'opération est terminée, le chevalet est mis à sécher à 50°.

COLORATIONS

1° Protéines :

Deux colorations sont surtout employées : le bleu de bromophénol (55, 85, 23, 36, 46) et le noir d'amide 10 B.

La première nécessite un coefficient de correction car il colore plus fortement la fraction albumine, ses résultats concordent moins bien avec l'électrophorèse en milieu liquide (23).

Des techniques d'évaluation après élution ont aussi été employées (55). WUNDERLY a démontré que 70 % au maximum des protéines étaient éluées (86) et que ce taux était variable.

Le noir d'amide semble être le meilleur (77, 83). La technique employée est celle de GRASSMANN, HANNIG et KNEDEL (29, 2, 43).

Les bandes séchées sont immergées dans le colorant (10 g pour 1 000 cm³ de méthanol acétique à 10 %) pendant 10 minutes à raison de 30 cc pour 5 bandes dans un bac animé d'un mouvement de bascule grâce à un moteur dont la vitesse est de deux tours minute.

Le colorant ne doit être utilisé qu'une fois, car lorsqu'il est chargé de tampon l'affinité des protéines pour

le colorant varie. Les bandes sont ensuite lavées par quatre bains successifs de méthanol acétique à 10 % pendant 10 minutes.

Les bandes sont essorées puis placées sur un papier filtre sec. Elles peuvent être stockées en attendant la photométrie.

2° Les glycoprotéines :

Nous avons employé la méthode de GOMORI (93) et HOTCHKISS (95) selon la technique de KOÏW et GRÖNVALL (45) modifiée (35).

Les polysaccharides oxydés par l'acide périodique donnent naissance à des polyaldéhydes qui recolorent le réactif de SCHIFF. On ne connaît pas exactement la nature des substances qui, dans ces conditions, donnent naissance à des fonctions aldehydes.

Le bain réducteur dont HOTCHKISS préconise l'emploi après l'oxydation périodique a été supprimé car, à la suite de LISON (50), GROULADE a remarqué qu'il diminuait nettement l'intensité de la coloration obtenue. Il est remplacé par un rinçage à l'alcool sulfité.

Réactifs :

1° Acide périodique : 6 g;
Eau distillée : 150 cc;
Acétate de Na $\frac{M}{5}$: 75 cc;
Ethanol : 500 cc,

à conserver au frigo à +4°.

2° Fuchsine basique GRÜBLER : 2 g;
Eau distillée bouillante : 400 cc.

Laisser refroidir puis :

Acide chlorhydrique 2 N : 10 cc;
Métabisulfite de K RP : 4 g.

Boucher et laisser une nuit à l'obscurité à +4° C. Mélanger à 1 g de charbon activé pulvérisé et filtrer. Ajouter 30 cc d'acide chlorhydrique 2 N. Le liquide se décolore progressivement.

Il est conservé dans un flacon bouché à l'émeri à +4°.

Au moment de l'emploi, ce réactif est dilué à volume égal avec de l'éthanol à 95°. Cette modification rend la réaction plus sensible.

— Eau distillée sulfitée de rinçage;
Eau distillée : 1 000 cc;
Acide chlorhydrique concentré RP : 10 cc;
Métabisulfite de K RP : 4 g.

A conserver soigneusement bouché.

Technique : Les bandes séchées à 37° sont rincées à l'alcool éthylique pur puis immergées pendant 5 minutes dans le bain d'acide périodique.

Les bandes sont ensuite rincées à l'aide du premier bain alcoolique additionné du quart de son volume de solution sulfitée.

La coloration dans la solution de fuchsine alcoolique dure 45 minutes. Elle est suivie de 5 lavages de 5 minutes dans la solution sulfitée de rinçage. Les bandes sont ensuite deshydratées par deux bains d'alcool pur. Après essorage elles sont séchées à l'air.

3° Lipoprotéines :

La technique de SWAHN (78) a été employée.

Colorant :

Noir cerol B : 0,5 g;
Alcool éthylique : 250 cc;
Eau distillée : 250 cc.

Le noir cerol B est dissout dans un peu d'éthanol pur, puis dilué à 250, et l'eau distillée est ajoutée peu à peu en agitant. Le mélange est placé dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux et porté à l'ébullition pendant 45 minutes.

Il est refroidi puis filtré.

Coloration : 5 bandes sont immergées dans 50 cc de colorant pendant une heure dans un bac animé d'un mouvement oscillant, comme pour toutes les colorations.

Aussitôt après la coloration les bandes essorées sur papier filtre sont immergées dans la glycérine jusqu'à la photométrie.

RAYNAUD fixe les lipides à l'aide d'une solution alcoolique de gomme laque (67). D'autres colorants ont été préconisés : le Cereschwartz Pt C 2683 Bayer par LORENZINI (52); l'Oïl red O par DURRUM, PAUL et SMITH (89); le bleu Ciba par WUNDERLY et PEZOLD (106).

DENSITOMETRIE

Les bandes qui ont été mises sous presse pour assurer la planéité sont imprégnées d'huile de vaseline pendant 20 minutes (protéines et glycoprotéines) ou de glycérine (lipoprotéines).

L'appareil (ELPHOR) muni d'un filtre orange pour les protéines et les lipoprotéines et d'un filtre vert (WRATTEN, 55) pour les glycoprotéines donne millimètre par millimètre la densité optique des taches.

PLANIMETRIE ET EXPRESSION DES VALEURS

En portant en ordonnée les densités optiques et en abscisse les distances, on obtient une courbe dont la surface est proportionnelle à la concentration des protéines dans chaque fraction. La séparation des fractions a été déterminée par la méthode des parallèles à l'axe des ordonnées, en tenant compte du minimum séparant habituellement les diverses globulines et du changement de pente séparant les albumines des globulines α_1. Cette détermination doit toujours se faire à l'aide de la bande de papier. Les surfaces sont ensuite calculées à l'aide d'un planimètre. A partir de ces surfaces on peut calculer les valeurs relatives puis les valeurs absolues (à partir du poids de protéines totales, du coefficient glyco et lipoprotéique).

MORPHOLOGIE DES COURBES

Protéines :

La fraction albumine est la seule qui donne une courbe d'aspect gaussien.

La fraction α_1 est la plupart du temps difficile à séparer avec précision, que l'on emploie la méthode des parallèles ou celle des courbes de Gauss, car sa mobilité est trop proche de celle des albumines et sa concentration inférieure.

La fraction α_2 présente un maximum situé vers la zone la plus rapide. La courbe retombe en pente douce vers les globulines β.

La morphologie est plus systématique si la quantité α_2 est augmentée comme on le voit dans certains états pathologiques.

Lorsque le maximum de concentration des α_2 se trouve déplacé vers les globulines β, il faut craindre la cause d'erreur due à l'hémolyse, l'hémoglobine migrant sous forme de complexe avec une fraction α_2 lente, puis β si la concentration augmente (32 - 84 - 90).

Les globulines β présentent un premier maximum rapide en général bien net et suivi d'un changement de pente correspondant à une sous-fraction.

Les globulines γ présentent une forme beaucoup plus progressive où on distingue souvent une fraction rapide.

Nous avons observé quelquefois une fraction plus rapide que la fraction albumine dont la concentration est extrêmement faible. Elle provoque un petit accident de la branche ascendante de la courbe des albumines. Cet accident s'étend sur environ 1 cm, et malgré qu'il soit de faible importance il est nécessaire de le connaître, car il peut provoquer une erreur d'établissement du zéro optique. Cette fraction est probablement analogue à la fraction ϱ de GRABAR (27). HOCH et CHANUTIN (94) ont mis en évidence dans la plupart des sérums normaux un constituant protéique dont la vitesse de déplacement est de 18 % plus élevée que celle des albumines en milieu liquide dans un tampon à base de chlorure de sodium (0,6 %) à pH 7,8 et 8,3.

La plupart du temps, entre le point de dépôt et le début des globulines γ, il existe une zone dont la densité optique est de l'ordre de 0,03. GRASSMANN et HANNIG proposent pour cette raison de dévier l'axe des abcisses vers le haut.

Glycoprotéines :

Les fractions albumines et α_1 donnent souvent deux accidents nettement individualisés, mais, chez les sujets normaux, il nous a paru mieux de les réunir.

La fraction α_2 est en général prédominante et donne l'accident le plus net de la courbe.

La fraction β peut être importante, mais alors le plus souvent elle s'élargit et les accidents deviennent moins nets.

La fraction γ est la moins importante, mais elle se délimite assez facilement.

Lipoprotéines :

La courbe a été divisée en trois fractions :

1° La fraction la plus rapide pourrait se décomposer en deux parties, l'une rapide retenant peu de colorant, correspondant probablement à la fois à la fraction albumine et à la fraction ϱ, l'autre plus lente avec un maximum net correspondant aux fractions albumines lentes et α_1. Chez le sujet normal nous n'avons pas trouvé de fraction lipidique correspondant aux globulines α_2.

Les fractions moyennes de mobilité β peuvent se décomposer en une fraction rapide prépondérante migrant un peu en avant des globulines β_1 et une fraction plus lente difficile à dissocier mais provoquant un accident de courbe assez net.

Les fractions lentes sont peu concentrées et correspondent vraisemblablement à la fois à des globulines γ et à des particules peu mobiles ou immobiles mais entraînées par des particules mobiles (chylomicrons). KUNKEL et SLATTER (96) ont décomposé le lipidogramme en six fractions : 3 α et 3 β.

ECARTS EXPERIMENTAUX

(séparation de longue durée)

Nos écarts sont résumés dans le tableau ci-dessous :

	Nombre d'expér.	Albumine	α_1	α_2	β	γ	Coeff.
PROTÉINES :							
m	20	53,8	4,8	8,0	14,8	18,4	
s		1,27	0,94	0,9	0,88	1,06	
C.V.		2,36	19,6	11,1	5,95	5.76	
GLYCOPR. :							
m	16	18,6		23,8	29	28,5	100
s		1,6		2,17	1,88	1,7	4,75
C.V.		8,6		9,12	6,48	5,96	4,75
LIPOPR. :							
m	16	26,0			63,1	10,5	100
s		1,83			2,38	2,78	5,5
C.V.		7,0			3,77	26,5	5,5

m : valeur moyenne;
s : écarts quadratiques moyens;
C. V. : coefficient de variation.

Quelles que soient les fractions considérées, le coefficient de variation est inversement proportionnel à l'ordre de grandeur de la valeur déterminée.

Les deux fractions dont la détermination est la moins précise sont les globulines α_1 et les lipoprotéines γ.

D'une manière générale les fractions protéiques ont un coefficient de variation beaucoup plus faible.

Ce sont les lipoprotéines qui donnent le plus fort. DREVON a trouvé pour les protéines des coefficients de variation nettement plus élevés (16). Les écarts-types de KNAPP (44) sont légèrement plus élevés que les

nôtres. SOMMERFELT a trouvé une déviation-standard variant de 2 à 10 % (102).

PIEPER et MOLINSKI (62) ont obtenu une déviation-standard du même ordre que la nôtre à 20° C, mais à 8° C elle est nettement inférieure.

SVENSSON et BELFANTI ont trouvé une déviation-standard du même ordre que la nôtre lorsque la séparation était de longue durée et des valeurs très nettement inférieures pour une séparation de courte durée (77).

WUNDERLY (87) rapporte les résultats de KORVER, PLUCKTHUN et GOTTING et de SONNET et RODHAIN dont les valeurs sont du même ordre que celles de GRASSMANN et HANNIG (30) et celles de RIVA et MARTINI (71). Tous ces écarts sont inférieurs aux nôtres.

PROTEINES TOTALES

Elles ont été déterminées par la méthode de PHILIPS et Van SLYKE selon la technique de DUCHATEAU (19). Elle est simple, fidèle et rapide. La précision de ± 1 g nous a paru suffisante.

COEFFICIENT GLYCOPROTEIQUE ET LIPOPROTEIQUE

Pour exprimer en valeurs absolues leurs constituants, les sérums ont été comparés à un standard constitué par le mélange de 20 sérums d'individus de 30 à 40 ans qu'il est facile de trouver dans un Centre de Transfusion. Ces sérums étaient prélevés le matin, les échantillons présentant une opalescence étaient écartés. Le

calcul des coefficients se fait de la manière suivante (38), en déposant sur la même bande de papier :

— Deux traces de sérum standard de 20 et 40 mm^3;
— Deux traces de chaque sérum à évaluer de 30 mm^3.

On peut ainsi faire deux estimations par bande. La coloration se fait par les deux méthodes déjà décrites.

Après densitométrie et évaluation des surfaces, les deux premières valeurs donnent une pente qui permet de déduire en fonction du témoin la concentration relative des autres sérums.

Ce mode opératoire, bien qu'entaché d'une erreur de 4,7 % pour les glycoprotéines et de 5,5 % pour les lipoprotéines, est plus exact que la comparaison de deux surfaces de courbes densitométriques obtenues sur deux bandes de papier différentes, car la pente de densité optique diffère d'une bande à l'autre et encore plus d'une série de bandes à l'autre.

Les valeurs relatives obtenues par planimétrie d'une courbe peuvent ainsi être transformées en valeurs absolues après leur produit par ce coefficient, la nouvelle expression se fait alors en pour cent de sérum témoin.

Autres techniques :

Nous ne voudrions pas terminer ce chapitre sans signaler les études générales qui ont été publiées récemment et passent en revue l'ensemble des possibilités de la méthode d'électrophorèse sur papier par WUNDERLY (85), LEDERER (49) et MUNIER (60).

Planche N° 1

SÉPARATION ÉLECTROPHORÉTIQUE D'UN SÉRUM NORMAL

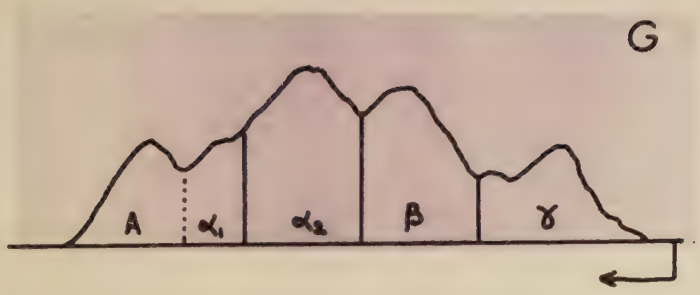
Sérum T 150 Homme de 29 ans

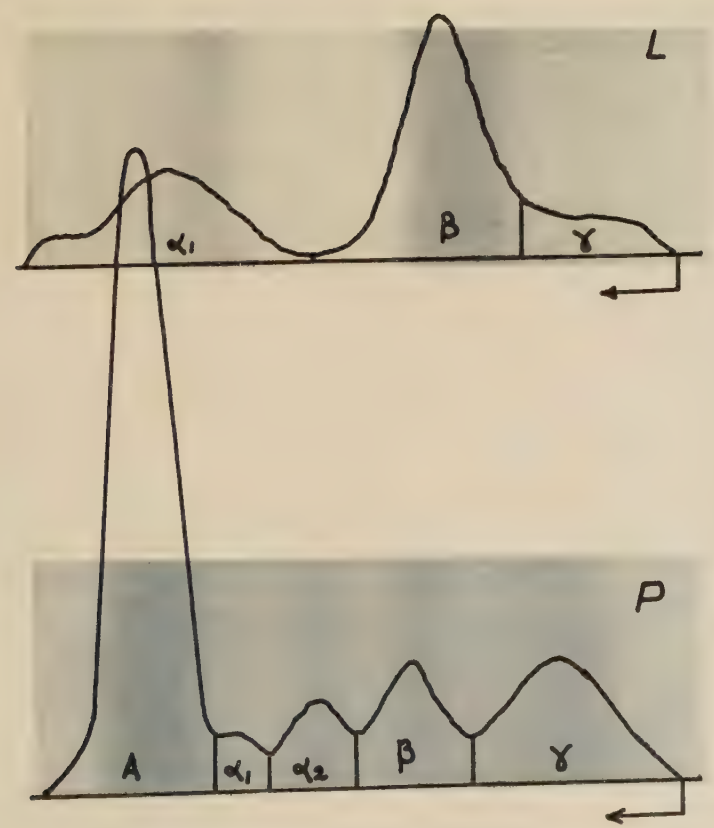
P. = Protéinogramme	Alb.	α_1	α_2	β	γ	P. T.
Valeurs relatives	55,9	3,6	6,7	12,4	21,3	70 gr
Valeurs absolues	39,1	2,5	4,7	8,7	15	

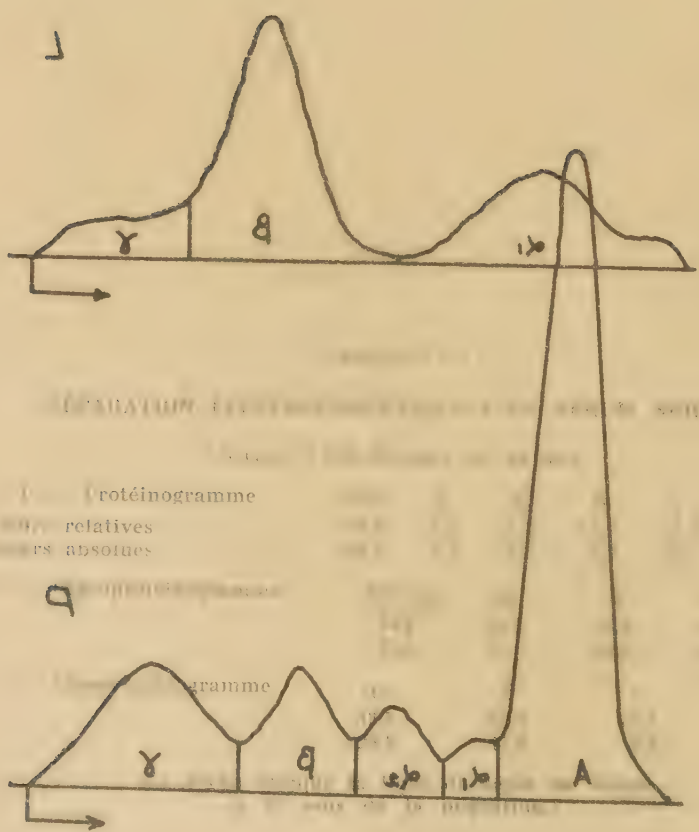
G. = Glycoprotéinogramme	Alb. α_1	α_2	β	γ	C. G.
	23,4	32,6	26,9	17	92
	21,5	30	24,8	15,7	

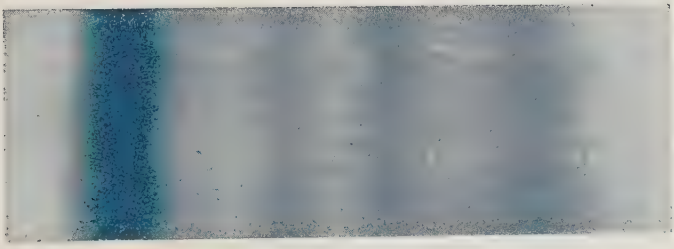
L. = Lipoprotéinogramme	α_1	β	γ	C. L.
	33,5	55,4	11,1	86
	28,2	47,6	9,6	

(La flèche indique la ligne de dépôt du sérum et le sens de la migration.)


G
A
α1
α2
β
γ


L
α1
β
γ
P
A
α1
α2
β
γ


γ
β
α2
α1
A
γ
β
α1
γ
β
α2
α1
A



DÉFINITION ET EXPLOITATION DU MATÉRIEL D'ÉTUDE

1. — DESCRIPTION DES ECHANTILLONS

L'essentiel du travail a nécessité 1 029 séparations électrophorétiques qui se décomposent ainsi :

492 séparations de sérums de sujets du sexe masculin;
393 séparations de sérums de sujets du sexe féminin;
84 séparations de sérums de sujets à jeun et au cours de digestion, et enfin 60 séparations d'un même sérum pour l'étude de l'écart expérimental des trois méthodes.

Chaque sérum comporte trois séparations : le protéinogramme, le glycoprotéinogramme et le lipoprotéinogramme.

A) Répartition selon l'âge.

Dans chaque sexe, entre 20 et 85 ans, les sujets ont été groupés en 6 échantillons de 16 à 32 individus, délimités de la façon suivante :

a) 20 - 25 ans;
b) 25 - 30 ans;
c) 30 - 40 ans;
d) 40 - 50 ans;
e) 50 - 60 ans;
f) 60 - 85 ans.

Le nombre de cas par chaque catégorie est indiqué dans les tableaux récapitulatifs des résultas des trois grands groupes de substances (protéines, glycoprotéines, lipoprotéines).

Les individus âgés de 60 à 85 ans ont été groupés en un même échantillon, bien que leurs caractéristiques ne soient pas toujours homogènes, à cause de leur nombre réduit.

B) Définition du sujet normal.

Nous avons utilisé pour ce travail :

a) Les donneurs du Centre de Transfusion Sanguine, suivis à intervalle régulier;

b) Des individus vivant en collectivité, étudiants en Médecine de 1re Année et élèves-infirmières, ayant une activité normale;

c) Des sujets âgés de plus de 60 ans, dont certains étaient dans un asile de vieillards des Hôpitaux de Grenoble.

Nous tenons à remercier MM. les Docteurs MAZARE et BONNET-EYMARD de nous avoir autorisé à effectuer ces prélèvements.

Chez tous ces sujets nous avons contrôlé la tension artérielle, la vitesse de sédimentation, le volume globulaire et l'absence d'antécédents pathologiques. Cependant nous avons conservé trois sujets féminins ayant subi une hystérectomie.

Pour chaque sujet une fiche a été établie comportant les indications suivantes : âge, taille, poids, embonpoint, maigreur, règles régulières ou non, éventuellement date de la ménopause, T.A., V.S., V.G.

C) Caractères morphologiques.

Sur 164 hommes, nous avons trouvé 31 sujets avec embonpoint indiscutable, dont 7 dépassaient le poids de 100 kilos, et 21 sujets nettement maigres. Ils se répartissent ainsi :

1° *Sujets avec embonpoint :*

4 sujets au-dessous de 30 ans;
5 sujets de 30 à 40 ans;
14 sujets de 40 à 50 ans;
8 sujets entre 50 et 60 ans.

2° *Sujets maigres :*

17 sujets au-dessous de 30 ans;
4 sujets au-dessus.

Parmi 131 femmes, nous avons trouvé seulement 12 femmes avec embompoint, dont :

5 au-dessous de 40 ans;
7 au-dessus de 40 ans,

et trois femmes maigres.

Il faut remarquer que les caractères morphologiques féminins, en dehors des cas avec embompoint indiscutable, sont très difficiles à définir et à estimer.

D) Caractères de la vie génitale des sujets féminins.

Nous nous sommes limités à des critères sommaires faciles à définir, régularité du cycle menstruel et temps écoulé depuis la date de la ménopause.

4 sujets seulement présentent des cycles menstruels irréguliers;

25 sujets sont ménopausés;

12 depuis moins de cinq ans, d'âge compris entre 50 et 55 ans;

13 depuis plus de cinq ans, d'âge supérieur à 48 ans.

Les sujets féminins présentent très peu d'anomalies, beaucoup moins sans doute qu'une population normale prise au hasard. La majeure partie de nos échantillons comprend des personnes qui sont venues donner du sang parce qu'elles « se portent bien ».

Peut-être un certain nombre de sujets féminins viennent-ils donner du sang avec espoir de combattre une tendance à l'embonpoint, ce qui explique un nombre extrêmement réduit de sujets maigres.

2. — CHOIX DES TEMOINS

Par l'expression des coefficients glyco et lipoprotéiques nous avons dû déterminer des mélanges témoins constitués par 20 sérums d'individus d'âge moyen (d'environ 35 ans) à cause de la répartition générale des prélèvements, les individus les plus jeunes et les plus âgés ont été prélevés en série pour compléter l'échantillonnage.

Il s'agissait de sujets dont le prélèvement de sang avait été fait alors qu'ils étaient à jeun ou au cours de la matinée. L'expérience nous ayant appris que le repas perturbateur était celui de midi. Ces témoins extrêmement homogènes du point de vue glycoprotéique présentaient des fluctuations des lipoprotéines inférieures à 5 %.

L'ensemble des estimations faites se ramène donc à une comparaison de sujets normaux isolés en fonction d'un groupe d'individus normaux d'âge moyen.

3. — EXPLOITATION STATISTIQUE DES RESULTATS

a) Fiches mécanographiques.

La fiche mécanographique utilisée était du type à 96 perforations auxquelles était attribuée une signification soit qualitative (sexe) (régularité du cycle menstruel), soit quantitative :

Age de 5 en 5 ans;

Taille de 5 en 5 cm;

Poids de 5 en 5 kg;

T.A. < à 11 (Femmes); à 12 (Hommes);
> à 18 dans les deux sexes;

Protéines totales par 2,5 grammes;

Coefficient glyco et lipoprotéique par 0,1;

Albumine : 5 % pour les valeurs relatives,
5 grammes pour les valeurs absolues.

Pour toutes les autres fractions, classification en trois catégories d'une valeur moyenne.

Au recto de ces fiches, tous les renseignements qualitatifs et quantitatifs (valeur relative et valeur absolue de chaque fraction) étaient inscrits ainsi qu'un numéro d'ordre, au verso, les trois courbes des séparations protéiques, lipoprotéiques et glycoprotéiques étaient décalquées permettant ainsi d'avoir sur une même fiche toutes les caractéristiques d'un individu et de son sérum avec la possibilité d'une classification et d'une recherche systématique d'une corrélation possible entre les écarts extrêmes d'une valeur et tout autre caractère ayant servi à l'établissement de la fiche.

b) Mode de détermination des caractéristiques (12).

Pour chaque série d'échantillons les calculs ont été disposés dans quatre colonnes.

La première contient les données expérimentales (X);
la deuxième les écarts en +;
la troisième les écarts en — calculés par rapport à une moyenne provisoire (G).

Dans la quatrième colonne sont portés les carrés de ces écarts $(X\text{-}G)^2$.

Dans un premier temps on détermine la moyenne expérimentale réelle ($\bar{x}$) qui est égale à la somme algébrique de la moyenne provisoire et du quotient de la somme de tous les écarts par le nombre de sérums (N)

$$x = G + \frac{S\ (X\text{-}G)}{N}$$

Dans un deuxième temps on corrige la somme des écarts provisoires en retranchant le quotient du carré de la somme des écarts par le nombre de sérums.

$$S\ x^2 = S\ (X\text{-}G)^2 - \frac{[S\ (X\text{-}G)]^2}{N}$$

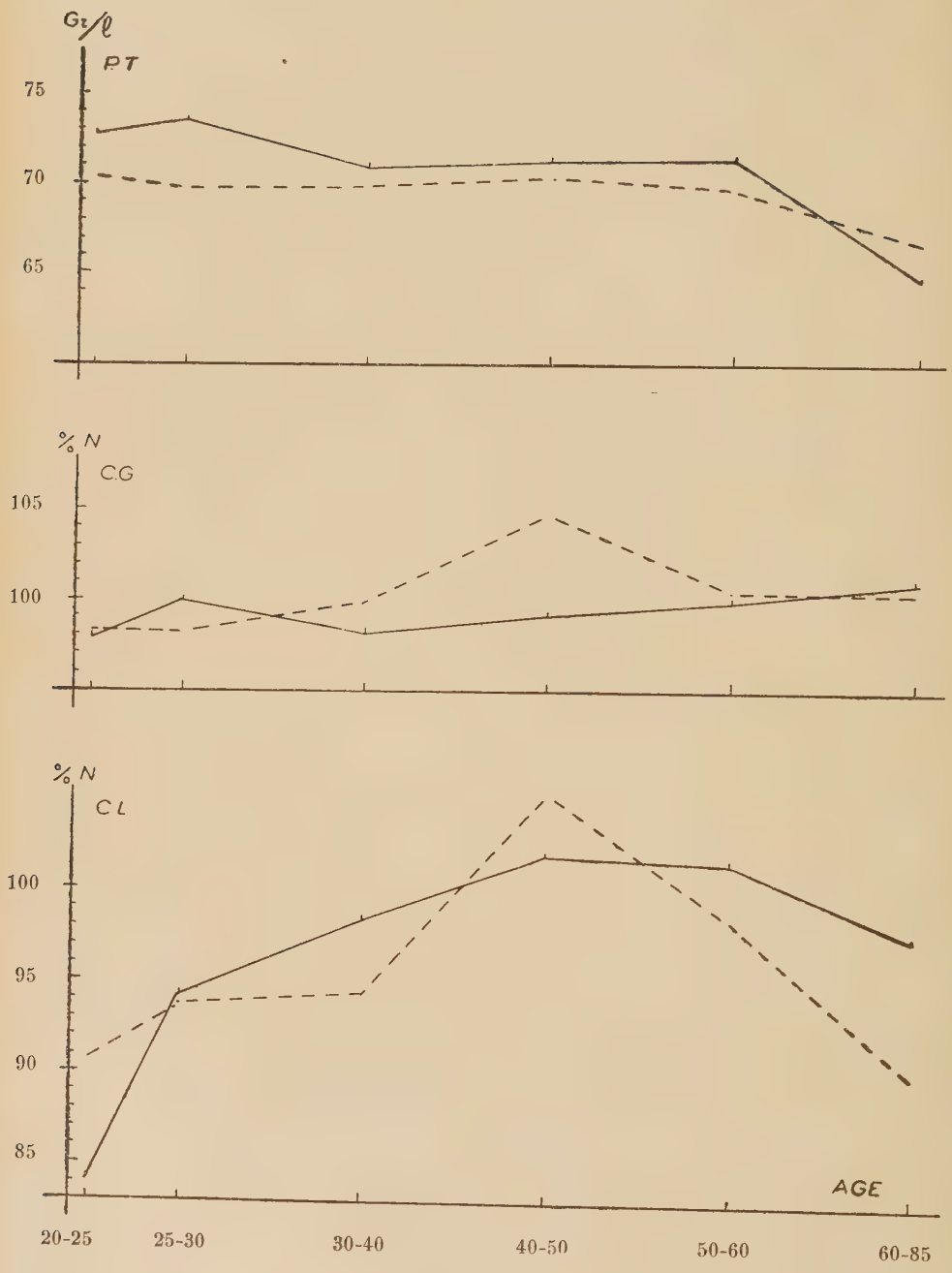
La simplicité de la correction des caractéristiques en cas de modification de l'échantillonnage motive la complexité apparente de ces calculs. En effet, en cas de suppression des valeurs correspondantes à un sérum aberrant un seul écart est supprimé, tous les autres restant valables. La série des corrections se limite à celle des formules ci-dessus. D'autre part, le choix comme moyenne provisoire d'une valeur simple facilite les calculs. Dans un troisième temps l'approximation de

l'écart type ou écart quadratique moyen est calculée à l'aide de la formule :

$$s = \frac{S\ x^2}{N - 1}$$

En fin de compte, un échantillon est caractérisé par sa moyenne et son écart quadratique moyen.

Les valeurs $\bar{x}$ et s représentent des valeurs approchées des moyennes et écarts types théoriques qui ne peuvent être atteints qu'avec de très grands échantillons.



Graphique N° 1

Variation suivant l'âge, chez l'homme (trait plein) et chez la femme trait pointillé) des Protéines totales (P. T.), des coefficients Glycoprotéiques (C. G.) et Lipoprotéiques (C. L.) en fonction de l'âge.

RÉSULTATS

Les protéines, les glycoprotéines et les lipoprotéines sont étudiées à l'aide de leurs valeurs moyennes et de l'écart quadratique moyen. L'ensemble des résultats, leur variation exprimée en valeur relative et en valeur absolue pour chaque catégorie figure dans un tableau et un ensemble de graphiques établis pour chaque sexe en fonction de l'âge.

1. — PROTEINES

A) Protéines totales.

Chez l'homme, les protéines totales plus élevées chez le sujet jeune conservent une valeur constante jusqu'à 60 ans et diminuent entre 60 et 85 ans. L'écart est compris entre 2,3 et 4 jusqu'à 60 ans, chez le vieillard il atteint 6. Dans cette catégorie la protéinémie est comprise entre 58 et 74 g/l avec un grand nombre de valeurs

particulièrement faibles; chez la femme la protéinémie est régulière et inférieure de 1,5 à celle de l'homme. Les écarts sont du même ordre mais ne s'exagèrent pas entre 60 et 85 ans. La protéinémie s'abaisse moins. Les valeurs extrêmes, 60 et 74, sont pratiquement les mêmes mais la fréquence des valeurs basses est moindre. En résumé, dans les deux sexes jusqu'à 60 ans, la protéinémie est stable, au-dessus de cet âge elle s'abaisse avec une tendance plus nette chez l'homme.

B) Fractions protéiques.

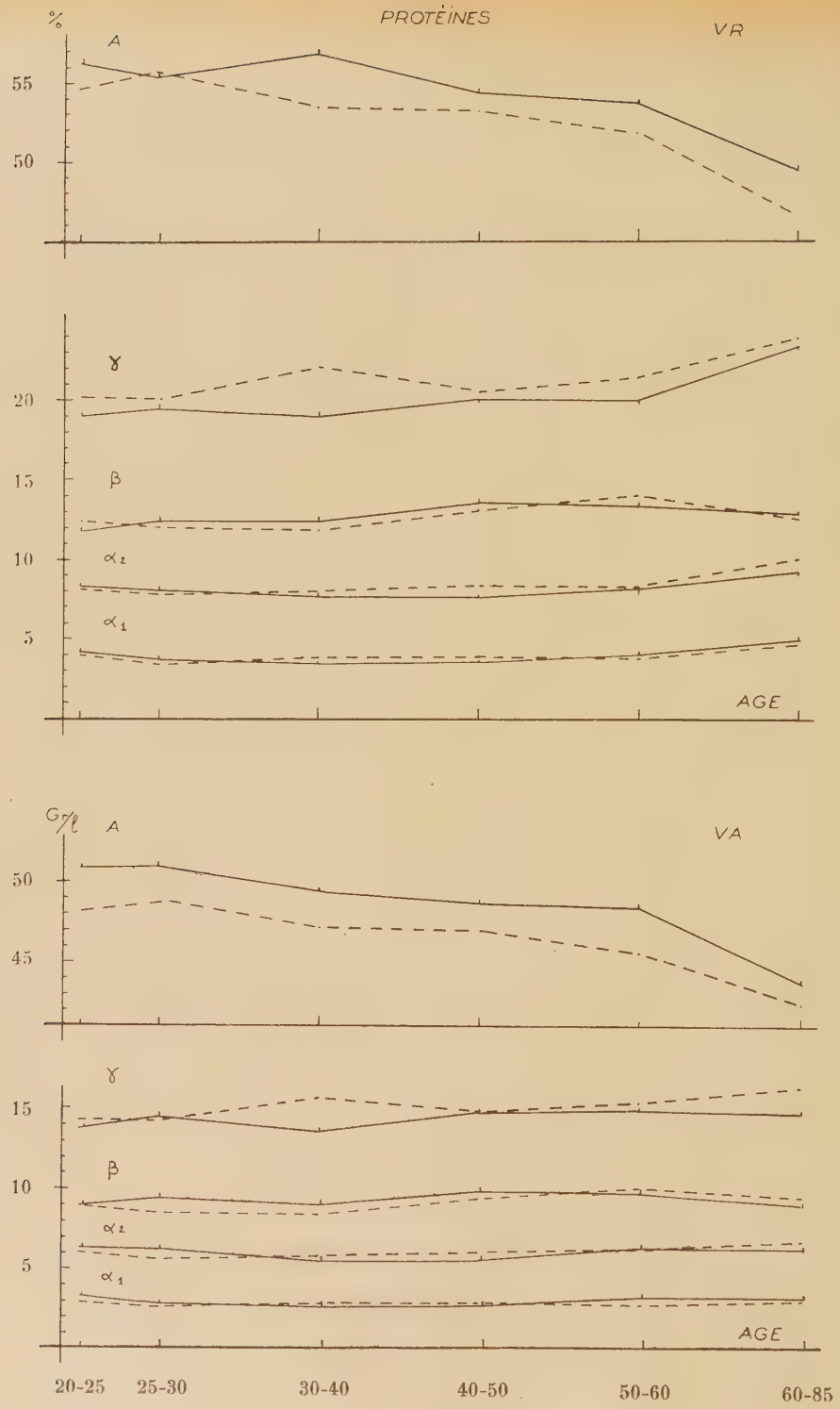
L'albumine diminue régulièrement chez l'homme et chez la femme. La valeur, pour l'homme, de 56 % dans la catégorie 20 à 25 ans, tombe à 49 % chez le vieillard. La variation est parallèle chez la femme avec des valeurs régulièrement inférieures. Les valeurs absolues varient de manière plus progressive et plus accentuée. C'est donc l'albumine qui est responsable de la baisse de la protéinémie chez le vieillard. C'est elle aussi qui est responsable des valeurs plus élevées chez l'adulte jeune.

Les globulines γ, toujours légèrement supérieures chez la femme, ont tendance à s'élever avec l'âge. Cette tendance est moins nette en valeur absolue.

Les autres fractions de globulines : β, α_1 et α_2 varient très peu. Seules les globulines β ont une légère tendance en valeur relative à s'élever de 20 à 50 ans.

Les écarts sont en général deux fois supérieurs à l'écart expérimental pour toutes les fractions protéiques. Leurs valeurs sont stables, mais, chez la femme âgée, on note un écart plus important pour les γ globulines.

Le groupe 60 à 85 ans subdivisé en deux catégories 60 à 70 ans, 70 à 85 ans, montre que la chute des protéines totales se produit chez l'homme après 70 ans et porte sur l'albumine. Chez la femme, la variation est de même sens mais bien moindre, les poids d'albumine rejoignent ceux de l'homme, mais les γ globulines augmentant. Leurs valeurs absolues sont les suivantes :



Graphique N° 2

Variations des fractions protéiques chez l'homme (trait plein) et chez la femme (trait pointillé) en fonction de l'âge.
Valeurs Relatives (V. R.)
Valeurs Absolues (V. A.)

PROTÉINES

HOMMES		VALEURS RELATIVES					
Ages	Nombre de cas	Protéines totales	Alb.	α_1	α_2	β	γ
20 - 25	35	72,6 ± 3,7	56,3 ± 3,6	4,3 ± 0,95	8,4 ± 1	12 ± 1,7	19,2 ± 2,4
25 - 30	30	73,4 ± 2,3	55,5 ± 2,1	3,9 ± 0,98	8,2 ± 1,4	12,6 ± 1,7	19,6 ± 2,2
30 - 40	30	70,9 ± 4,1	56,6 ± 3,3	3,8 ± 0,75	7,9 ± 1,3	12,5 ± 1,4	19 ± 2,8
40 - 50	32	71 ± 3	54,4 ± 3,5	3,8 ± 0,84	8 ± 1,5	13,8 ± 1,9	20,1 ± 2,3
50 - 60	22	71,2 ± 3	53,6 ± 4,1	4,1 ± 0,93	8,2 ± 1,6	13,4 ± 2,2	20,9 ± 2,9
60 - 85	15	64,9 ± 6,1	50,6 ± 3,8	4,7 ± 1,1	9,3 ± 1,6	13,1 ± 1,9	22,2 ± 2,8

HOMMES		VALEURS ABSOLUES					
Ages	Nombre de cas		Alb.	α_1	α_2	β	γ
20 - 25	35		40,9 ± 3,2	3,1 ± 0,68	6,1 ± 1	8,7 ± 1,2	13,7 ± 2
25 - 30	30		40,8 ± 2,7	2,9 ± 0,70	6,1 ± 1,5	9,2 ± 1,2	14,2 ± 2
30 - 40	30		39,7 ± 3,3	2,6 ± 0,57	5,4 ± 1,1	8,9 ± 1,1	13,4 ± 2,3
40 - 50	32		38,6 ± 2,9	2,7 ± 0,61	5,6 ± 0,98	9,7 ± 1,5	14,5 ± 2,5
50 - 60	22		38,3 ± 4,1	3,1 ± 0,6	6 ± 1,38	9,5 ± 1,7	14,6 ± 1,8
60 - 85	15		33,8 ± 4,3	3 ± 0,7	6 ± 1,18	8,7 ± 2,1	14,4 ± 1,5

FEMMES		VALEURS RELATIVES					
Ages	Nombre de cas	Protéines totales	Alb.	α_1	α_2	β	γ
20 - 25	29	70,3 ± 2,9	54,4 ± 4,1	4,1 ± 0,90	8,4 ± 1,28	12,5 ± 1,7	20,3 ± 3
25 - 30	20	69,7 ± 2,7	55,6 ± 3,8	3,8 ± 0,80	8 ± 1,2	12,2 ± 1,4	20,2 ± 2,9
30 - 40	21	69,7 ± 3,1	53,4 ± 4,3	4 ± 0,77	8,3 ± 1,3	12 ± 2,2	22,2 ± 3,1
40 - 50	28	70,2 ± 4,3	53,2 ± 2,9	4 ± 0,94	8,5 ± 1	13,3 ± 2	20,6 ± 2,7
50 - 60	17	69,7 ± 4,2	51,8 ± 3,8	3,9 ± 1,16	8,3 ± 1,5	14 ± 2,4	21,6 ± 3,4
60 - 85	16	66,7 ± 3	49,2 ± 5,7	4,5 ± 0,90	9,9 ± 2,1	13,3 ± 2,5	22,8 ± 4,4

FEMMES		VALEURS ABSOLUES					
Ages	Nombre de cas		Alb.	α_1	α_2	β	γ
20 - 25	29		38,3 ± 2,7	2,9 ± 0,61	5,9 ± 0,98	8,8 ± 1,3	14,1 ± 2,4
25 - 30	20		38,9 ± 2,5	2,6 ± 0,55	5,5 ± 1,10	8,4 ± 1,2	14,1 ± 2,4
30 - 40	21		37,3 ± 3,3	2,8 ± 0,50	5,7 ± 1,14	8,2 ± 1,5	15,5 ± 2,3
40 - 50	28		37,1 ± 2,9	2,8 ± 0,65	5,9 ± 0,70	9,3 ± 1,7	14,5 ± 2,7
50 - 60	17		35,7 ± 3,6	2,7 ± 0,70	6 ± 0,80	9,8 ± 1,9	15 ± 2,5
60 - 85	16		32,4 ± 3,6	3 ± 0,68	6,6 ± 1,30	9,2 ± 2,2	16 ± 4,3

Hommes			Femmes	
Albumine	γ		Albumine	γ
37,3	14,5	60 - 70 ans	35,6	13,6
30	14,4	70 - 85 ans	30,4	15,6

Le chiffre plus élevé des γ globulines chez les femmes âgées est dû à la présence de trois sujets dont les valeurs relatives sont supérieures à 29 %, ce qui explique aussi l'écart élevé des valeurs relatives d'albumine correspondant.

En conclusion, chez l'homme comme chez la femme, ce sont les variations de la fraction albumine qui sont les plus importantes et responsables de la chute de la protéinémie avec l'âge. Les écarts quadratiques moyens sont assez réguliers et environ le double des écarts expérimentaux.

2. — GLYCOPROTEINES

A) Le coefficient glycoprotéique.

Chez l'homme, la variation avec l'âge est négligeable puisqu'elle n'atteint que la moitié de l'écart quadratique qui est régulier et compris entre 5, à 20 ans, et 7,7, à 85 ans.

Chez la femme, par contre, les valeurs sont à peu près superposables, sauf entre 40 et 50 ans où l'on note une valeur égale à 1,05 qui est justement la période prémènopausique et mènopausique. D'une manière géné-

rale l'écart est plus important que chez l'homme, et il augmente nettement au-dessus de 40 ans (aux environs de 8 %).

Les glycoprotéines sont aussi stables que les protéines totales, mais leur variation se produit en général en sens inverse, les femmes de 40 à 50 ans étant mises à part. La valeur relative de l'écart, comparée à celle des protéines totales est à peu près du même ordre chez l'homme, un peu supérieure chez la femme.

B) Les fractions glycoprotéiques.

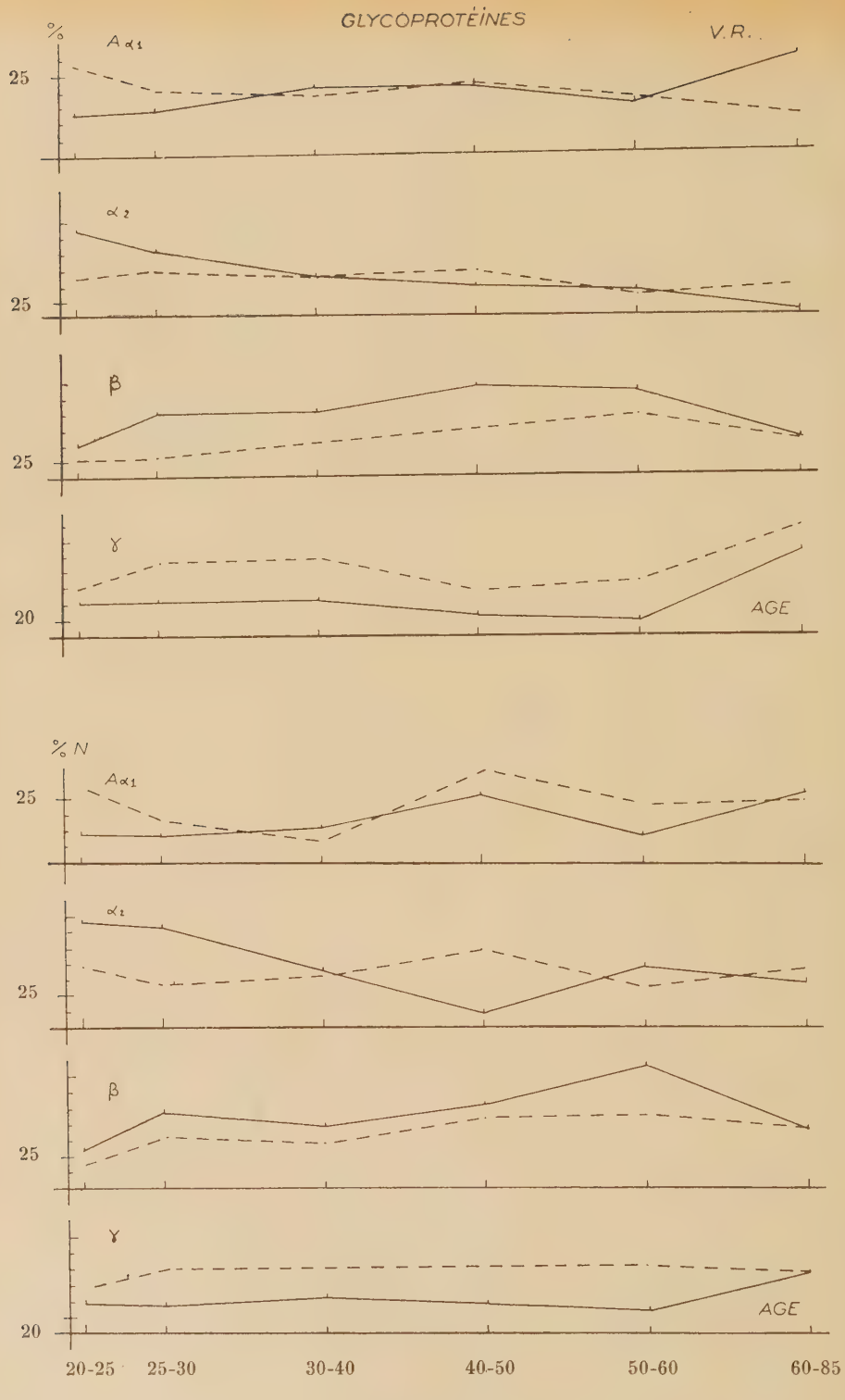
Les fractions albumine et glycoprotéine α_1 ont une tendance à l'augmentation avec l'âge chez l'homme, au contraire chez la femme on note une tendance à la diminution. Entre 40 et 60 ans, leurs valeurs sont communes.

Pour l'homme, les valeurs absolues montrent les mêmes tendances, mais pour la femme, on observe un minimum entre 30 et 40 et un maximum entre 40 et 50 ans.

Les valeurs relatives de glycoprotéines α_2 chez l'homme s'abaissent légèrement avec l'âge, les valeurs absolues montrent un minimum net entre 40 et 50 ans.

Chez la femme, qu'il s'agisse de valeurs absolues ou relatives, les variations sont peu importantes, cependant il existe un maximum entre 40 et 50 ans.

En définitive, cette fraction considérée à la fois chez l'homme et chez la femme subit des fluctuations exactement et régulièrement opposées.



Graphique N° 3

Variations des fractions Glycoprotéiques chez l'homme (trait plein) et chez la femme (trait pointillé) en fonction de l'âge, exprimées en Valeurs Relatives (V. R.) et en Valeurs Absolues (V. A.), c'est-à-dire en pourcentage du témoin.

GLYCOPROTÉINES

HOMMES		VALEURS RELATIVES				
Ages	Nombre de cas	Coeff. Glyc.	Alb. + α_1	α_2	β	γ
20 - 25	35	98 ± 5	22,7 ± 4,9	29,4 ± 5,2	26 ± 3,7	21,2 ± 3,2
25 - 30	30	100 ± 5,2	22,8 ± 5,1	28,2 ± 3,8	28 ± 3,1	21,3 ± 3,8
30 - 40	30	98,3 ± 6,8	24 ± 4,9	26,7 ± 4,2	28 ± 3,1	21,3 ± 3
40 - 50	32	99,2 ± 7,9	24,3 ± 5,3	26 ± 4,5	29,5 ± 3,2	20,1 ± 3,9
50 - 60	22	99,9 ± 6,1	23,3 ± 5,5	25,7 ± 4,5	29,1 ± 3,7	20 ± 3,5
60 - 85	15	101 ± 7,7	25,7 ± 3,6	24,2 ± 3,2	27,8 ± 2,8	23,7 ± 2,2

HOMMES		VALEURS ABSOLUES				
Ages	Nombre de cas		Alb. + α_1	α_2	β	γ
20 - 25	35		22,8 ± 4,1	29,5 ± 4,5	25,3 ± 3,2	20,8 ± 4,3
25 - 30	30		22,7 ± 4,5	29,1 ± 3,9	27,7 ± 3,4	20,6 ± 4,4
30 - 40	30		23,7 ± 5,6	26,2 ± 4,7	26,9 ± 4,3	21,3 ± 3,8
40 - 50	32		25,3 ± 5,3	23,9 ± 3,8	28 ± 4,8	20,9 ± 4,3
50 - 60	22		22,7 ± 5,9	26,7 ± 4,3	30,3 ± 5,6	20,2 ± 4,3
60 - 85	15		25,4 ± 3,3	25,7 ± 5,3	26,4 ± 3,4	22,5 ± 3,4

FEMMES		VALEURS RELATIVES				
Ages	Nombre de cas	Coeff. Glyc.	Alb. + α_1	α_2	β	γ
20 - 25	29	98,3 ± 6,4	25,7 ± 4,9	26,7 ± 3,9	25 ± 3	22,1 ± 3,7
25 - 30	20	98,2 ± 6,5	24,1 ± 5,2	26,9 ± 3,7	25,2 ± 2,8	23,6 ± 3,7
30 - 40	21	100 ± 6	23,7 ± 6,4	26,6 ± 4	26 ± 3,2	23,8 ± 5,5
40 - 50	28	104,9 ± 7,9	24,4 ± 5,4	27 ± 3,9	26,8 ± 3,2	21,8 ± 4,4
50 - 60	17	100,6 ± 8,8	23,2 ± 5,8	25,1 ± 6	27,6 ± 4,6	22,4 ± 4,5
60 - 85	16	100,4 ± 9,4	25,4 ± 6,2	24,6 ± 3,9	27,3 ± 4,1	23,2 ± 5,1

FEMMES		VALEURS ABSOLUES				
Ages	Nombre de cas		Alb. + α_1	α_2	β	γ
20 - 25	29		25,9 ± 5,1	26,9 ± 4,3	24,4 ± 2,6	21,8 ± 4,2
25 - 30	20		23,8 ± 4,9	25,8 ± 4,6	26,4 ± 2,9	23,1 ± 4,3
30 - 40	21		22,5 ± 4,7	26 ± 5,9	25,8 ± 4,3	23,1 ± 3,5
40 - 50	28		26,6 ± 6,2	27,9 ± 4,4	27,4 ± 4	23 ± 3,6
50 - 60	17		24,6 ± 3,6	25,4 ± 6,9	27,6 ± 5,5	23 ± 5,2
60 - 85	16		25 ± 5,5	26,6 ± 6,8	26,6 ± 4,8	22,9 ± 6,7

Les glycoprotéines β ont tendance à augmenter dans les deux sexes avec l'âge. On observe un maximum des valeurs relatives chez l'homme entre 40 et 50 ans, en valeur absolue il est beaucoup plus net et se situe entre 50 et 60 ans. Les valeurs observées chez la femme sont inférieures et plus régulières.

Les glycoprotéines γ ne subissent pas de grosses variations avec l'âge, surtout si l'on considère les valeurs absolues. Chez la femme elles sont régulièrement plus élevées. Cependant chez l'homme de 60 à 85 ans, on retrouve la même valeur relativement haute.

Les écarts sont élevés eux aussi pour les fractions albumines α_1 dans les deux sexes et pour les valeurs absolues des fractions α_2 chez la femme.

D'une manière générale, tous les écarts semblent plus élevés que pour les fractions protéiques, mais restent également environ deux fois plus élevés que les écarts expérimentaux correspondants. L'écart quadratique des valeurs absolues de glycoprotéines β s'élève régulièrement chez l'homme et atteint un maximum entre 50 et 60 ans, il s'élève également régulièrement chez la femme avec toutefois un décalage moins grand.

Conclusion : Les glycoprotéines représentent la fraction en général stable qui varie relativement peu, le maximum du coefficient glucidique observé chez la femme est dû à l'augmentation des fractions albumine α_1 et α_2.

Les fractions γ sont plus élevées chez la femme que chez l'homme avec une grande stabilité.

La variation des fractions α_2 et β chez l'homme se produit en sens inverse, ce qui permet de distinguer deux

types : l'un, plus fréquent chez le jeune, caractérisé par des α_2 élevés et des glycoprotéines β relativement basses; l'autre, particulièrement net entre 40 et 60 ans, avec des valeurs inverses. Ceci considéré en valeur absolue ou en valeur relative.

Planche N° 2

GLYCOPROTÉINOGRAMMES

$G._1$ = Sérum T 155 Homme de 24 ans

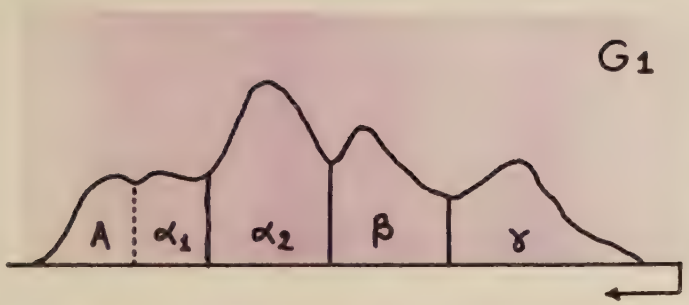
	Alb. α_1	α_2	β	γ	C. G.
Valeurs relatives	24	32	22,7	21,3	97
Valeurs absolues	23,3	31	22	20,7	

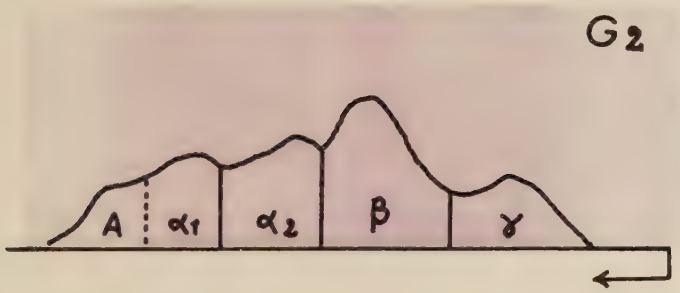
$G._2$ = Sérum T 70 Homme de 42 ans

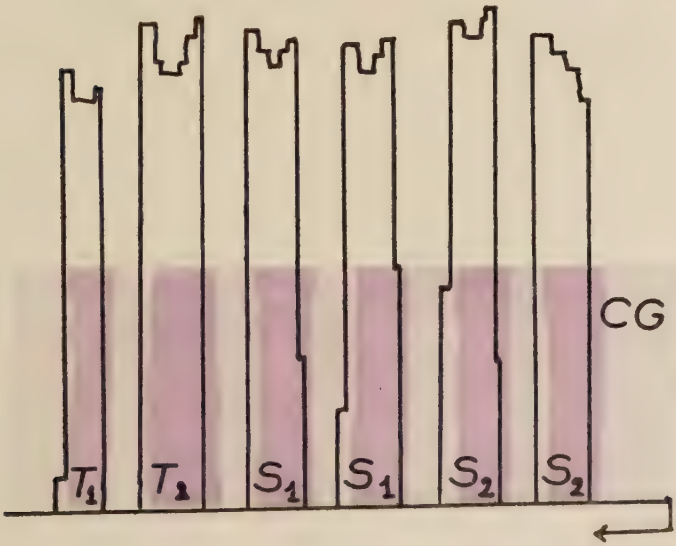
	Alb. α_1	α_2	β	γ	C. G.
Valeurs relatives	25,8	24,7	33	16,5	99
Valeurs absolues	25,5	24,5	32,7	16,3	

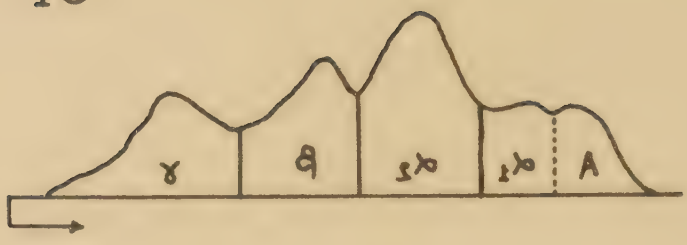
Ces deux exemples illustrent les 2 types de Glycoprotéinogramme, avec prédominance des fractions globuliniques α_2 ($G._1$) ou β ($G._2$).

C. G. = Exemple de détermination du coefficient glycoprotéique
T_1 = 20 mmc Sérum témoin.
T_2 = 40 mmc Sérum témoin.
S_1 = Sérum à doser (2 traces de 30 mmc pour chaque Sérum).

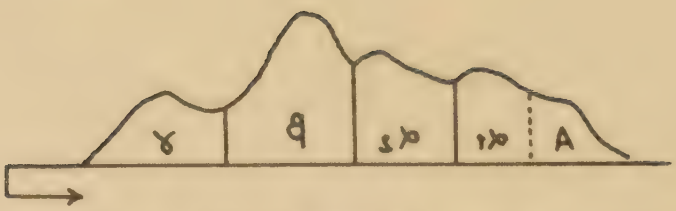

G1
A
α1
α2
β
γ


G2
A
α1
α2
β
γ

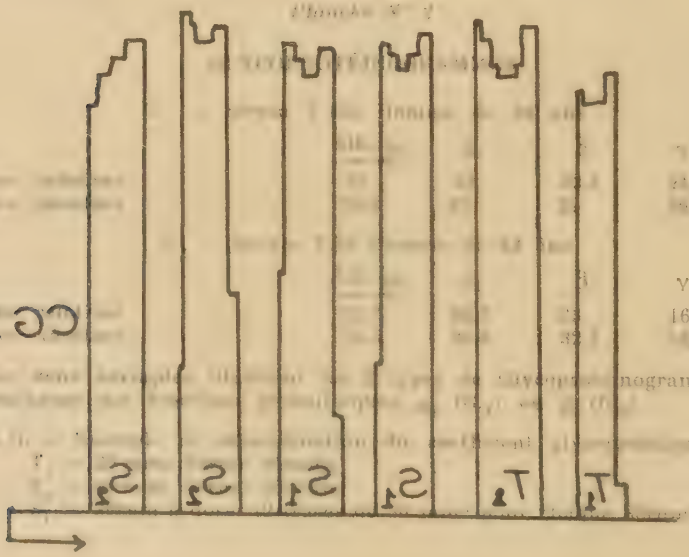

CG
T1
T2
S1
S1
S2
S2



C1



C2



CC

3. — LIPOPROTEINES

A) Coefficient lipoprotéique.

Sa variation est très importante chez l'homme et chez la femme avec l'âge. Il atteint un maximum très net, surtout pour le sexe féminin entre 40 et 50 ans. Dans chaque catégorie, il se trouve des individus qui introduisent des valeurs très aberrantes en plus ou en moins. Dans certaines catégories où nous avons pu être sûr de l'état de jeun strict des sujets (infirmières), l'écart était inférieur de 3 % à la valeur des sujets du même âge.

Chez la femme, les chiffres les plus élevés se trouvent entre 40 et 50 ans (période ménopausique). La moyenne des sujets de cet âge étant de 1,10; sur trois coefficients supérieurs à 1,20, deux correspondent à des sujets hystérectomisés.

Deux ans après la ménopause on voit disparaître les coefficients très élevés, à partir de 5 ans après la ménopause ils s'abaissent au-dessous de 1 et les coefficients bas deviennent fréquents. Entre 60 et 85 ans il atteint 0,90.

Chez l'homme la variation des coefficients est plus régulière; chez le sujet jeune le coefficient est très bas, un groupe de 12 étudiants âgés de 20 à 23 ans a un coefficient de 0,79. L'élévation est plus progressive que dans le sexe féminin et le maximum moins net. La chute entre 60 et 85 ans est moins accusée.

L'importance de l'écart suit en gros les variations du coefficient, sauf pour les hommes de 25 à 30 ans pour lesquels il atteint 15 %. Il est relativement plus élevé que pour les autres fractions, il est compris entre deux et trois fois la valeur de l'écart expérimental.

B) Les fractions lipoprotéines.

La fraction lipoprotéines α_1 est beaucoup plus élevée chez la femme que chez l'homme avec, jusqu'à 60 ans, une différence d'environ 4 à 6 % de plus, de 60 à 85 ans elle prend des valeurs inférieures à celles de l'homme, la courbe diminuant ainsi régulièrement de 30 à 85 ans. Les valeurs absolues font apparaître un deuxième maximum vers 40-50 ans.

Chez l'homme un minimum est atteint dans la série des sujets de 40 à 50 ans, puis on note une augmentation jusqu'à 85 ans. Les écarts quadratiques moyens, comparables chez l'homme et chez la femme en valeurs relatives et en valeurs absolues, sont très élevés avec un maximum dans la série de 25 à 30 ans. L'importance est due à l'existence de deux types extrêmes caractérisés l'un par des lipoprotéines α_1 supérieures à 30 %, nettement plus fréquent dans le sexe féminin jusqu'à 50 ans, l'autre par des valeurs inférieures à 25 % qui représente plutôt le type masculin.

Chez l'homme la fraction lipoprotéique β augmente régulièrement jusqu'à 50 ans pour diminuer jusqu'à 85 ans, en valeur relative et en valeur absolue, ces dernières montrant une variation trois fois plus importante.

Chez la femme la variation en valeur relative montre une tendance à l'élévation jusqu'à 50 ans puis une stabilisation. Par contre, les valeurs absolues montrent une variation d'abord moins importante que l'homme jusqu'à 40 ans pour atteindre à 50 ans un chiffre voisin.

La comparaison des variations en valeurs absolues de cette fraction avec celle du coefficient lipoprotéique montre que c'est la fraction lipoprotéique β qui détermine le sens des variations du coefficient.

Les écarts quadratiques moyens en valeur absolue sont beaucoup plus élevés chez l'homme et chez la

femme que ceux des valeurs relatives, mais ils atteignent leur maximum chez l'homme entre 25 et 30 ans et chez la femme entre 40 et 50 ans. Ces deux maxima correspondent aux plus grandes perturbations de la fraction lipoprotéique β, et l'on note des valeurs extrêmes comparables dans ces deux catégories.

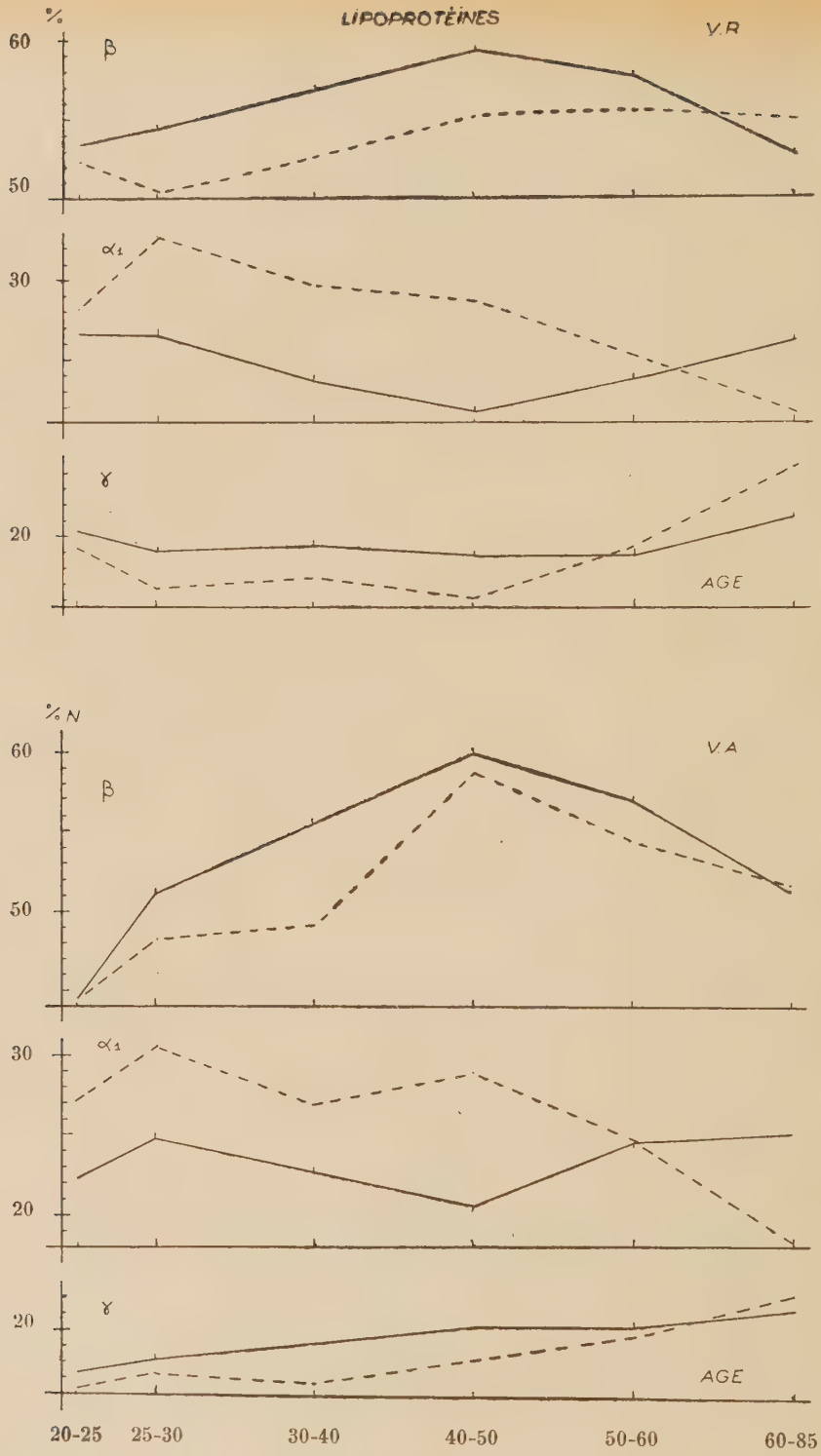
	Age	Coeff. L.P.	β
Hommes	25 - 30	0,72 - 1,26	82 - 32
Femmes	40 - 50	0,80 - 1,36	82 - 39

Chez l'homme comme chez la femme, les valeurs relatives des lipoprotéiques γ sont stables jusqu'à 50 ans puis s'élèvent nettement au-dessus de cet âge.

Les valeurs absolues ne montrent qu'une augmentation régulière avec l'âge, les valeurs étant inférieures pour le sexe féminin.

Les écarts en valeurs relative et absolue sont du même ordre dans les deux sexes quel que soit l'âge : ils sont élevés, en moyenne trois fois plus grands que l'écart expérimental ce qui est dû malgré l'apparente stabilité des valeurs moyennes aux importantes variations individuelles de cette fraction.

En résumé, les lipoprotéines, qu'on les considère dans leur totalité ou dans leurs fractions, sont extrêmement variables. La fraction β paraît la principale responsable des variations individuelles, la fraction α_1 est nettement plus élevée chez la femme jeune, et présente un maximum d'instabilité dans le sexe masculin entre 25 et 30 ans et dans le sexe féminin entre 40 et 50 ans.



Graphique N° 4

Variations des fractions Lipoprotéiques chez l'homme (trait plein) et chez la femme (trait pointillé) en fonction de l'âge, exprimées en Valeurs Relatives (V. R.) et en Valeurs Absolues (V. A.), c'est-à-dire en pourcentage du témoin.

LIPOPROTÉINES

HOMMES		VALEURS RELATIVES			
Ages	Nombre de cas	Coeff. Lip.	α_1	β	γ
20 - 25	35	84,2 ± 10,2	26,6 ± 5,3	53,5 ± 5,4	20,2 ± 5,5
25 - 30	30	95,7 ± 14,3	26,4 ± 8,8	54,3 ± 8,2	19,1 ± 5,7
30 - 40	30	98,2 ± 12,6	23,6 ± 5,9	56,8 ± 4,9	19,5 ± 5,9
40 - 50	32	101,8 ± 14,2	21,7 ± 7,5	59,1 ± 5,9	18,8 ± 5,7
50 - 60	22	101,5 ± 15,4	23,7 ± 6,7	57,4 ± 5	18,8 ± 6,6
60 - 85	15	97,6 ± 13	26,2 ± 5,6	52,7 ± 5	21,5 ± 6,9

HOMMES		VALEURS ABSOLUES			
Ages	Nombre de cas		α_1	β	γ
20 - 25	35		22,3 ± 5,1	44,5 ± 6,9	17,3 ± 6,3
25 - 30	30		24,7 ± 7,5	51,2 ± 13,3	18,1 ± 5,6
30 - 40	30		22,9 ± 6,2	55,5 ± 10	19,2 ± 6,9
40 - 50	32		20,5 ± 7,8	60 ± 8,2	20,7 ± 5,3
50 - 60	22		24,4 ± 6,5	57 ± 6,5	20,2 ± 8,1
60 - 85	15		25,1 ± 7,8	51,2 ± 9,7	21,3 ± 6,6

FEMMES		VALEURS RELATIVES			
Ages	Nombre de cas	Coeff. Lip.	α_1	β	γ
20 - 25	29	90,7 ± 10,8	28 ± 5,2	52,3 ± 4,8	19,3 ± 5,5
25 - 30	20	93,9 ± 9	32,5 ± 8,1	50,4 ± 5,3	16,8 ± 7
30 - 40	21	93 ± 12,2	29,6 ± 6,5	52,5 ± 7,4	17,4 ± 6,7
40 - 50	28	105,4 ± 15,6	28,6 ± 7,8	55,1 ± 7,9	16,2 ± 6
50 - 60	17	98,5 ± 15,7	25,1 ± 8,4	55,4 ± 6,1	19,4 ± 7,9
60 - 85	16	90 ± 11	21,7 ± 7,4	54,9 ± 5,1	24,7 ± 6,1

FEMMES		VALEURS ABSOLUES			
Ages	Nombre de cas		α_1	β	γ
20 - 25	29		27 ± 6	44,5 ± 7,7	16,3 ± 4,6
25 - 30	20		30,5 ± 8,6	48,2 ± 9,4	17,4 ± 6,4
30 - 40	21		27 ± 7,9	49,1 ± 10,6	16,8 ± 5,6
40 - 50	28		28,8 ± 7,1	58,8 ± 13,7	18,2 ± 4,3
50 - 60	17		24,5 ± 10,3	54,4 ± 9,8	19,8 ± 5,4
60 - 85	16		18,2 ± 5,3	51,7 ± 9,5	22,2 ± 6,1

CORRELATIONS MORPHOLOGIQUES

A) Embonpoint.

Sur 164 hommes, 31 sujets présentent un embonpoint marqué et 7 d'entre eux pèsent plus de 100 kilos.

Y a-t-il une corrélation entre embonpoint et lipoprotéines ? La valeur moyenne du coefficient lipoprotéique de ces sujets est de 1,02 et leur âge moyen est de 44 ans, par rapport à des sujets du même âge pris au hasard on note une légère augmentation. La valeur moyenne des lipoprotéines β est en valeur relative de 57 % cette valeur est comparable à celle de sujets du même âge pris au hasard, de même pour les lipoprotéines α et γ. Il n'y a donc pas apparemment de corrélation entre embonpoint et lipoprotéines si ce n'est une fréquence légèrement plus grande des coefficients lipoprotéiques supérieurs à 1,00. Il en est de même pour 12 sujets féminins, 3 seulement avaient des valeurs supérieures aux moyennes de leur âge.

B) Sur 20 sujets maigres du sexe masculin, 14 individus ayant un âge moyen de 26 ans ont un coefficient lipoprotéique moyen de *0,81,* au lieu de 0,95 pour des sujets du même âge pris au hasard.

Six individus d'âge moyen égal à 39 ans ont un coefficient lipoprotéique moyen égal à *1,03.*

On a donc de très grosses variations individuelles, toutefois le chiffre moyen global est de 0,87 au lieu de 0,98, on peut donc conclure pour des sujets maigres à une diminution fréquente du coefficient lipoprotéique. Par contre les fractions lipoprotéiques conservent les mêmes valeurs relatives.

D'autre part il n'y a pas de corrélation entre maigreur et variations des fractions glycoprotéiques en particulier β. Les sujets avec embonpoint ont un âge moyen de 44 ans, 14 sujets maigres sur 20 ont un âge moyen de 26 ans, les autres ayant 35 ans. La maigreur est donc l'apanage du jeune, et la grande variation du coefficient lipoprotéique explique l'augmentation de l'écart des coefficients observés dans les catégorie des hommes de 25 à 30 ans.

Les trois sujets féminins nettement maigres comprennent deux femmes de moins de 30 ans et une de 52 ans. Leux coefficient lipoprotéique est voisin de 1. Toutes les fractions lipoprotéiques β sont autour de 50 %.

Planche N° 3

LIPOPROTÉINOGRAMMES

$L._1$ = Lipoprotéinogramme du sérum d'un sujet *à jeun.*

	α_1	β	γ	C. L.
Valeurs relatives	20,5	57,7	21,8	96 %
Valeurs absolues	19,7	55,4	20,9	

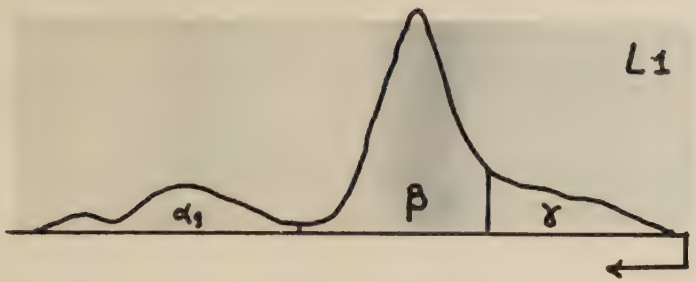
$L._2$ = Lipoprotéinogramme du même sérum 4 heures après le repas.

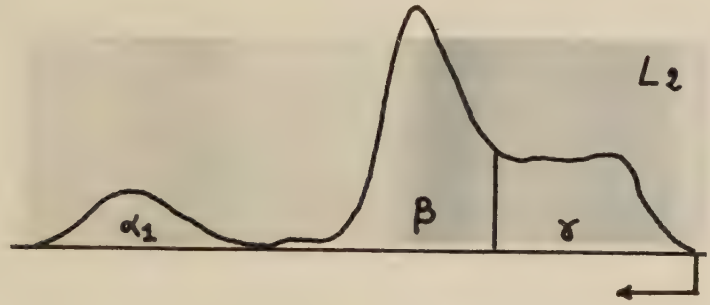
	α_1	β	γ	C. L.
Valeurs relatives	14,3	51,5	34,2	121 %
Valeurs absolues	17,3	62,3	41,3	

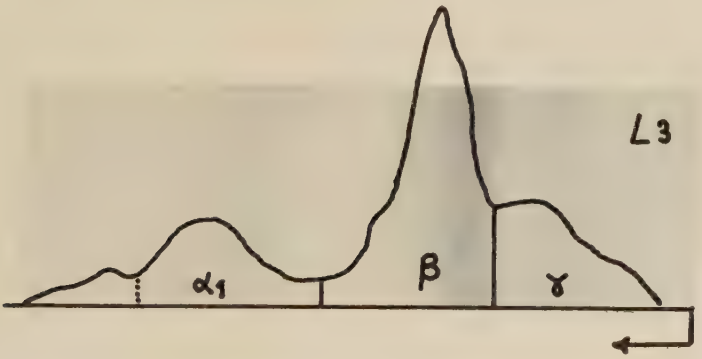
A noter pendant la période digestive une forte augmentation des fractions les moins mobiles, et l'augmentation du coefficient lipoprotéique.

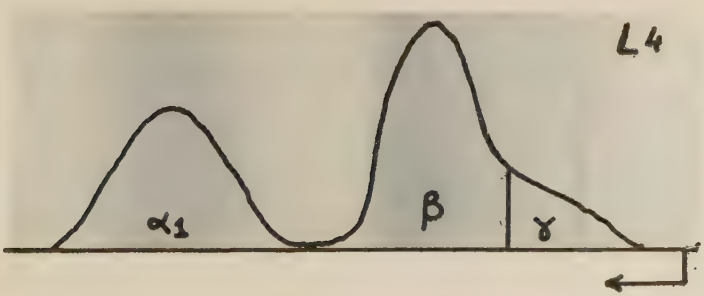
$L._3$ = Exemple d'un lipoprotéinogramme avec fraction β rapide en période digestive.

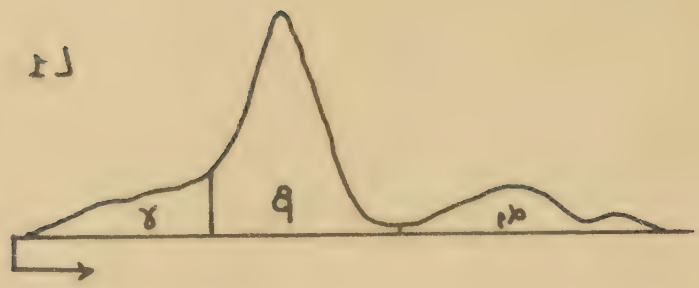
$L._4$ = Exemple d'un lipoprotéinogramme avec très forte fraction lipidique de mobilité α_1, rencontrée fréquemment chez la femme jeune.

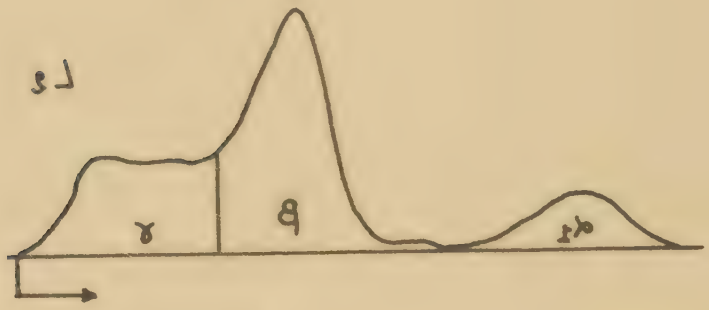

L1
α1
β
γ

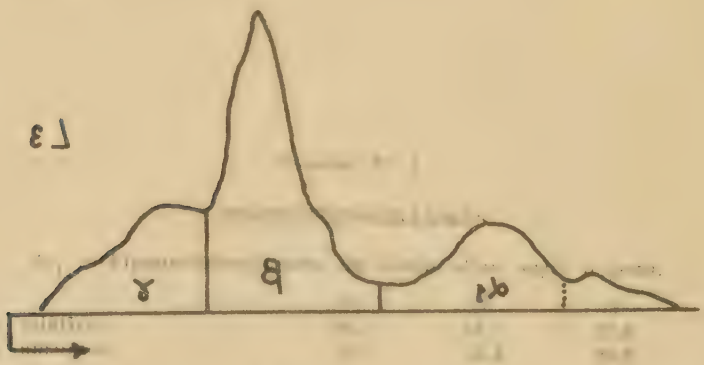

L2
α1
β
γ


L3
α1
β
γ


L4
α1
β
γ

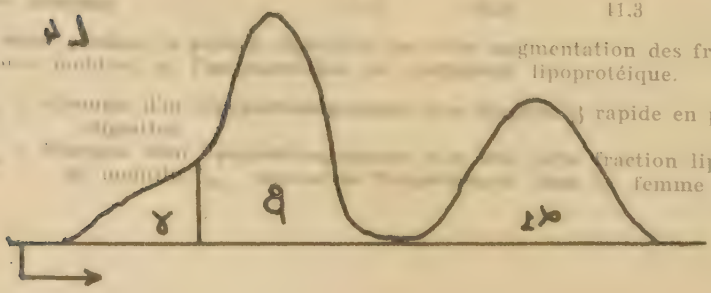






ures après le repas.

γ	C. L.
34,2	121 %
11,3	



gmentation des fractions lipoprotéique.

} rapide en période

fraction lipidique femme jeune.

CONFRONTATIONS
AVEC LES TRAVAUX ANTÉRIEURS

Les fractions protéiques ont été les plus étudiées, nous n'entreprendrons pas de passer en revue les innombrables travaux publiés. Les auteurs suivants ont publié des ouvrages dont la bibliographie étendue donne une idée complète des connaissances actuelles : ANTWEILLER (1), ENSELME (20), WUNDERLY (87), LEDERER (49).

Tous traitent à la fois des observations faites avec l'électrophorèse en milieu liquide et l'électrophorèse sur papier, cependant les résultats avec cette dernière technique ne concernent que des échantillons réduits ce qui, jusqu'à présent, a empêché d'en tirer des règles d'utilisation rationnelle.

Nous nous limiterons à l'étude de la définition du protéinogramme normal à l'exclusion de toute étude pathologique.

1. — Conservation du Sérum.

HOCH et CHANUTIN (37) ont trouvé que la conservation à 25-29° pendant deux semaines faisait diminuer le taux des globulines β au profit des globulines α_2 par

l'apparition d'une fraction β plus rapide. Par la méthode de GRASSMANN et HANNIG, SCHLEYER (75) a trouvé après conservation de 7 semaines à 4° une légère diminution des albumines et une augmentation des globulines β. Au contraire la fraction albumine était très nettement augmenté à 20° (66,6 %) et à 37° (75,8 %). Le même auteur, avec du sérum de cadavre, a trouvé une très forte chute des albumines et une augmentation générale de toutes les globulines. GROULADE (34), sur des sérums de chiens conservés à 4° pendant 4 mois à 40° a trouvé une diminution légère des albumines et des globulines β.

2. — Définitions de l'échantillon normal.

Il s'agit ici des témoins normaux accompagnant la plupart du temps des travaux sur des modifications pathologiques, leur nombre est peu élevé et leur âge en général pas précisé. L'exploitation des résultats fournis par l'électrophorèse en milieu liquide a été spécialement définie par ENSELME et TIGAUD (21) (79).

Les valeurs relatives déterminées ou rapportées par différents auteurs (1, 4, 15, 20, 22, 26, 49, 51, 58, 63, 64, 70, 72) s'étalent entre 48,6 % et 70,8 % ; ces différences sont en partie expliquées par des variations des conditions expérimentales qui malheureusement ne sont pas toujours précisées par tous les auteurs. Un résultat pathologique ne peut donc être interprété qu'en fonction des chiffres normaux déterminés dans les mêmes conditions.

Il est évident que les mêmes remarques sont valables pour les électrophorèses sur papier. Nous avons publié dans le tableau ci-dessous les chiffres globaux publiés par quelques auteurs. Les techniques employées sont indiquées ainsi que le nombre de sérums lorsqu'il était indiqué par l'auteur.

Auteurs	Nombre de cas	Méthode	Albumine	α_1	α_2	β	γ
TISELIUS (80)		Folin	52,9	6,3	12,2	10,1	18,5
		Elution du color.	65,9	3,9	8	9	13,1
GRASSMANN et HANNIG (30)	25	G. et H.	61,3	4,1	8,1	11	15,5
KNAPP (44)		G. et H.	60,5	4	9,5	11,6	15,0
Ecart			2,4	1,8	1,8	2,1	2,3
RIVA et MARTINI (71)	12	G. et H.	65,2	4,1	6,7	9,8	14,1
Ecart			4,3	1,14	1,28	1,6	2,9
De TRAVERSE (40) .		G. et H.	59,5	4	7,7	11	17,7
DELMON (14)		Folin					
Valeurs extrêmes .		Ciocalteu	49 - 62	4 - 7	5 - 9	11 - 4	15 - 21
BERGER (5)	20	G. et H.	61,8	1,2	6,5	14,3	16,2
	10	G. et H.	54,2	4	7,5	12,5	21,8
GRAS (28)	26	B. de B.	66,5	10,1		8,7	14,5
Ecart			5,5	2,6		2,14	3,1
ROULET A. (74)	50	G. et H.	57,4	4,1	7,6	12,3	18,3
KOIW, WALLENIUS et GRONWALD (46).	10	B. de B.	72,9	1,4	3,5	8,6	13,6
CASPANI et BERNASCONI (88)	11	G. et H.	62,7	3,9	7,5	10,7	14,9
SOMMERFELT (103)..	13	G. et H.	55,4	4,4	8,1	10	22,2
GROULADE et TIZZANI (32, 33)	37	G. et H.	58,6	3,3	7,8	12,9	17,5
			3,2	0,9	1,5	1,6	2,7

G. et H. : Méthode de GRASSMANN et HANNIG.
B. de B. : Méthode au Bleu de Bromophénol.

La méthode de GRASSMANN et HANNIG donne, entre les mains d'auteurs très variés, des résultats dont la concordance paraît satisfaisante, comme on le sait les résultats obtenus après coloration au bleu de Bromophénol donne des valeurs d'albumine nettement plus élevées parce que les globulines fixent ce colorant avec un coefficient inférieur à celui des albumines. D'ailleurs certains auteurs ont proposé d'appliquer aux chiffres de globulines ainsi obtenus un coefficient variable pouvant atteindre 1,6 (46). Nos résultats dans l'ensemble donnent des valeurs d'albumine moins élevées que celles publiées par GRASSMANN et HANNIG. Nous pensons que cette

différence s'explique par le fait que les auteurs proposent d'éliminer l'absorption par le papier de différentes fractions au cours de leur cheminement en corrigeant l'axe des abscisses. En effet, dans les courbes densitométriques obtenues par cette méthode, on observe, la plupart du temps, un décalage du zéro vers le haut, d'environ 2 à 4 centièmes de densité optique. Il paraît logique de joindre ce « zéro » à l'origine : il en résulte une diminution de l'aire des globulines qui est d'autant plus importante qu'on a affaire à une fraction plus lente. Nous n'avons pas fait cette rectification, d'une part parce que nous avons eu connaissance de cette modification de GRASSMANN et HANNIG alors que le travail était commencé et que, d'autre part, le décalage des zéros n'est pas constant. Nos écarts quadratiques moyens sont dans l'ensemble du même ordre que ceux des auteurs ci-dessus.

Variations avec l'âge.

Pour le fœtus, les fractions albumines et γ s'accroissent jusqu'à la naissance, — MOORE et collaborateurs (100 —, chez le prématuré — NORTON P. M. 101), MARTIN DU PAN R. (57), EWERBECK (22) —, les protéines totales, les albumines et les globulines γ sont inférieures à celles du nouveau-né normal (100, 22). Après la naissance les protéines totales ont une tendance à s'abaisser et les γ globulines s'abaissent nettement. Ces variations étant plus accentuées chez le prématuré (57). DREVON (17) a trouvé des valeurs relatives d'albumine plus élevées chez le nourrisson que chez l'adulte, alors que les globulines sont toujours diminuées.

Vers 5 ans, le taux des protéines totales de l'adulte est atteint, les autres valeurs se rapprochent de celles de l'adulte, les globulines α ont tendance à diminuer, tandis que le taux des globulines β augmente (LUB-

SCHEZ, ROUTH et ses collaborateurs, cités par RAFSKY) (64).

A l'âge adulte les valeurs connues ont été résumées dans le tableau suivant :

Auteurs et Méthodes	Age	Albumine	α_1	α_2	β	γ
De MENDE (48). (Milieu liquide) Tampon phosphate pH 7, 8.	18-30	60	12		15	13
Force ionique 0,2.	40-60	56,1	10,7		17,6	15,5
DELMONT (14). (Appareil Machebœuf) Elution et colorimétrie. Total : 50 sujets.	20-30	62-58	4-5	5-7	11-12	15-18
	30-40	60-55	4-6	5-7	11-12	15-19
	40-50	57-51	4-6	5-8	11-13	15-20
	50-70	55-49	4-7	5-9	11-14	16-21
MATHIEU (59). (Appareil de Kern) Tampon de Longsworth.	moins de 40	60,6		8,7	13,6	17
	plus de 40	58		8,9	15,3	17,8
RAFSKY (64). (Milieu liquide) pH 8, 5-8, 6. Tampon barbiturique. Force ionique 0,1. 31 sujets.	65-95 ans	48,6	8,5	10,2	16,7	15,9

Avec l'âge les albumines diminuent et les globulines augmentent dans leur ensemble avec pour certains auteurs une augmentation des globulines β (64, 59, 48).

MATHIEU et ses collaborateurs (59) ont trouvé une corrélation graphique de l'âge et de l'abaissement de l'albumine, de l'augmentation des globulines β et de la dispersion des globulines α_2. Les globulines γ ne paraissent pas influencées par l'âge. Nous avons retrouvé l'abaissement des albumines et l'élévation des globulines γ déjà signalées par DELMONT (14) et RAFSKY (64), De MENDE (48).

Variations avec le sexe.

PORTILLO (63), en milieu liquide (appareil de ANTWEILLER), tampon Veronal pH 8-6, 5, force ionique 0,1, trouve pour l'albumine une valeur un peu inféreure chez la femme (60,3 au lieu de 63,7 chez l'homme) et des globulines γ augmentées (16,3 au lieu de 14 %). Nous avons des résultats du même ordre. MATHIEU (59) ne trouve aucune différence entre les deux sexes.

Gestation.

Nous n'avons fait aucun examen au cours de la grossesse, bien que la grossesse normale soit un événement physiologique. MOORE D, MARTIN DU PAN R. et BUXTON (100) ont trouvé un abaissement de l'albumine, une augmentation des globulines α et β pendant la gestation. CHARVILLAT, BLANC, CREYSSEL et CHARVET (10), sur 40 gestantes, trouvent un abaissement d'albumine (de 12 %) en fin de grossesse et une augmentation de globulines α_1 (61 %) et de globulines β. STURMER in ANTWEILLER (1) fait la même remarque pour l'albumine, mais conclut comme les auteurs précédents que l'interprétation des globulines est plus difficile. MACK (56) a fait 88 déterminations pour 80 sujets répartis en série variant de 3 à 16, il trouve une chute d'albumine atteignant son maximum de 12 à 24 heures après l'accouchement. Les globulines α augmentent pour atteindre un maximum 5 à 6 jours après l'accouchement, les globulines β atteignent un maximum au moment de l'accouchement, les globulines γ diminuent et atteignent leur minimum peu de temps après l'accouchement.

Fractions et sous-fractions.

JAYLE et ses collaborateurs (41, 42) ont identifié dans les globulines α_2 l'haptoglobuline qu'ils ont pu isoler à l'état pur. GRABAR et BURTIN (27), par des méthodes immuno-électrophorétiques sur gélose, ont identifié 22 composés antigéniques, 3 pour l'albumine dont une fraction plus rapide habituellement non décelée, 9 pour les globulines α, 5 pour les globulines β et une pour les globulines γ.

Cette étude montre que l'hétérogénéité de toutes ces fractions est beaucoup plus grande que ne le ferait prévoir le maximum de concentration des fractions que l'on a l'habitude de considérer en électrophorèse ordinaire. En effet, il ne s'agit là que d'un minimum. Cette complexité explique les difficultés que l'on éprouve à séparer avec précision les différents pics globuliniques.

En milieu liquide la séparation du fibrinogène est bien connue. DOLE (15) a trouvé, avec un tampon véronal de pH 8,6, une valeur relative égale à 5 % $\pm$ 0,6.

BERKES et KARAS (6) ont pu réaliser cette séparation sur papier.

GROULADE et JACQUELINE (31) ont établi sur le plasma lépariné de 15 sujets âgés de 30 à 50 ans et de 20 sujets âgés de 20 à 25 ans une valeur relative de 8,8 $\pm$ 1,3, ce qui correspond à 6,7 $\pm$ 1,1 g/l. Les écarts des deux séries étant identiques. On admet habituellement que le fibrinogène est absorbé sur le papier et qu'il se transforme en fibrine très près de la ligne de départ, or il suffit de doubler la concentration d'héparine pour que le fibrinogène migre avec une vitesse intermédiaire à celle des globulines β et γ, comme on le voit dans la technique en milieu liquide.

Lipoprotéines.

Les travaux sur les lipoprotéines séparées par électrophorèse sur papier sont relativement nombreux, mais la plupart d'entre eux ne font pas état de résultats quantitatifs. L'électrophorèse sur papier a permis de faire des études nouvelles qui, jusqu'ici, étaient impossibles par les autres méthodes.

RAFSTEDT et SWAHN (65), chez 50 nouveau-nés, ont trouvé une très nette augmentation des lipides totaux dans les six premiers jours; c'est la fraction β qui en est responsable avec des valeurs doublées et même quelquefois quadruplées. C'est dans les trois premiers jours que les β lipides prennent une valeur comparable à celle de l'adulte, alors qu'à la naissance elles sont du même ordre de grandeur que la fraction α_1. Les fractions lentes (chylomicrons) sont presque doublées. *Chez l'adulte,* par des méthodes en milieu liquide, BLIX, TISELIUS et SVENSSON (in GRABAR) (26) avaient établi que les fractions α_2 et β étaient les plus riches en cholesterol, la fraction β étant 2 fois plus riche que la fraction α. La majeure partie des phospho-lipides se trouvent dans les globulines α et β, leur concentration est légèrement plus élevée dans la fraction β.

FASOLI (24) a trouvé que les globulines α contenaient environ le 1/4 du cholesterol et les phospho-lipides, le reste étant contenu dans les fractions β, et les fractions γ ne représentent que des quantités faibles ou nulles. Les résultats de NIKKILA (61) sur 60 sujets normaux sont du même ordre. Mais chez les sujets masculins, les concentrations en albumine et α_1, exprimées en valeur relative de cholesterol sont en majorité inférieures à 25 %, alors que chez la femme elles sont de l'ordre de 30 %. L'élévation étant d'autant plus grande qu'il s'agit de sujets plus jeunes. Chez l'homme, les fractions β, par contre, sont plus concentrées que chez la femme.

On retrouve ici une notion comparable à celle que nous avons mise en évidence pour les fractions α_1 et β-lipides dosées d'après leur capacité d'absorption du noir cérol B.

Parmi les rares résultats quantitatifs, nous retiendrons les suivants :

	Albumines et α_1	β	γ ou chylomicron
SWAHN (78)	25 à 30 %	50 à 60 %	10 à 20 %
SCHMID et collaborateurs (76)	10 à 25 %	40 à 50 %	30 à 40 %
ROSENBERG et collaborateurs (73) .. (18 sujets).	29,7 %	70,3 $\pm$ 6,1	
RAYNAUD et collaborateurs (66) ..	28 + 2 %	45 %	25 %
LORENZINI (52)	28,9	71,1	

A l'aide de l'électrophorèse sur gélose, GRABAR (27) a observé un seul clocher de lipoprotéines ayant une mobilité intermédiaire aux α_1 et α_2, ce qui constitue une énorme différence par rapport à la séparation en trois groupes des lipoprotéines que l'on observe sur papier.

Nos valeurs se rapprochent en général de celles données par SWAHN, celles des autres auteurs diffèrent sensiblement, ce qui s'explique peut-être par le fait qu'elles sont tirées de petits échantillons destinés à servir de témoins à des études de variations pathologiques.

Glycoprotéines.

BLIX, TISELIUS et SVENSSON in GRABAR (26) ont trouvé des valeurs suivantes exprimées en mannose :

α : 6,0; β : 6,2; γ : 3, qui montrent une répartition égale entre la fraction α et β et nettement inférieure pour la fraction γ.

Nous avons trouvé 4 résultats quantitatifs de glycoprotéines. BRAUN-FALCO, WEBER, THAESLER (8) et BJORNESJO (7) ont employé la technique de KOIW et GRONWALL :

	Album.	α_1	α_2	β	γ
BRAUN-FALCO	8,4 %	18,8 %	38,4 %	21,5 %	13,0 %
BJORNESJO		27,3 %	36,5 %	28,6 %	9,4 %

RAYNAUD (69) et ses collaborateurs expriment leurs fractions glycoprotéiques en mm^2 (surface de la courbe densitométrique), et pour les fractions α_1 et α_2 on peut déduire de leur donnée les valeurs relatives :

α_1, de 8 à 15 %,
α_2, de 23 à 34 %.

Nous n'avons pas pu prendre connaissance de LAURENT (97) et de WUNDERLY et PILLER (107).

Chez les sujets âgés, VANZETTI et ses collaborateurs (104, 105) ont noté une augmentation des polysaccharides totaux et des fractions globuliniques.

Etude des variations pendant la digestion.

Nous avons étudié chez 6 sujets d'âge variant entre 20 et 38 ans (trois hommes et trois femmes), les sérums prélevés à différents moments de la journée, en particulier à jeun, avant le repas de midi, 2 h, 4 h 30 et 7 heures après le repas. A la suite de deux expériences, les prélèvements avant le repas de midi ont été supprimés, les valeurs correspondant à celles obtenues à jeun.

Chez les individus qui ont montré la plus forte variation de la lipoprotéinémie post-prandiale, les sérums présentaient une opalescence nette. Les variations des fractions protéiques et glycoprotéiques sont négligeables à côté de celles des lipoprotéines. Cependant le coefficient glycoprotéique marque une tendance à s'élever 5 heures

après le repas, cette élévation est due à l'augmentation des fractions albumines et α_1.

Le coefficient lipoprotéique subit la même forte variation chez trois sujets masculins : il augmente de 25 % après le repas, l'un de ces sujets montre une ascension continue jusqu'à 7 heures après le repas, alors que pour les 5 autres sujets on note un maximum 4 heures après le repas.

Les valeurs à jeun sont variables malgré la certitude du jeun. Le chiffre le plus bas — 0,73 — a été observé chez un sujet féminin âgé de 20 ans. La valeur la plus élevée, chez le sujet masculin le plus âgé. Les lipoprotéines α_1 sont stationnaires chez 4 sujets avec une légère baisse chez deux autres.

La quantité de lipoprotéines β varie peu, mais le clocher très net chez les sujets à jeun s'étale durant la période digestive et ne reprend sa morphologie primitive que 5 heures après le repas, même lorsque le coefficient lipoprotéique tend encore à monter. RAYNAUD et ses collaborateurs (68) ont trouvé des résultats analogues. Chez un des sujets féminins on a vu apparaître au cours de la digestion une fraction β plus rapide, peu importante, mais très nette (Cf. cliché lipoprotéinogramme L 3).

Les lipoprotéines γ paraissent subir les plus importantes variations de toutes les fractions. Pour les rendre comparables, nous avons exprimé le coefficient de variation à partir de la valeur de départ. Chez trois sujets masculins on observe des maxima extrêmement variables 4 heures après le repas, dont les valeurs sont 133, 197 et 309 %.

Chez les trois sujets féminins les valeurs sont beaucoup moins élevées : 114, 140, 188.

On peut définir deux types apparents de variation post-prandiale, l'un dans lequel il y a un retour vers les

valeurs normales 7 heures après le repas, l'autre dans lequel après cette durée persistent des chiffres très élevés (170 et 297 % de la valeur de départ à jeun). L'intensité de la variation paraît proportionnelle à la richesse des aliments en lipides. Les mêmes sujets ayant montré après un repas pauvre en lipides une augmentation maximum de 115 %, et après un repas riche en graisse une augmentation de 197 %.

BECKER, MEYER et NECKELES in NIKKILA (61) ont montré que les chylomicrons sont plus abondants après absorption de corps gras et que leur disparition de la circulation est plus lente chez les individus âgés que chez les individus jeunes.

FASOLI (24) a remarqué qu'après ingestion de graisse les fractions β_1 et β_2 retiennent plus de soudan III, parce que leur contenu en graisse neutre augmente alors que le cholesterol et les phospholipides ne varient pas.

SWAHN a montré qu'il y avait une haute concentration en chylomicrons pendant la période digestive et chez le sujet présentant des troubles certains du métabolisme des graisses.

On peut rapprocher ces résultats de ceux de GLAZIER et ses collaborateurs (25) qui, grâce à l'ultra centrifugation, ont établi que les lipoprotéines ayant une vitesse de flottation supérieure à 20 sont plus importantes chez les individus qui ne sont pas à jeun, et ceci d'autant plus que l'âge est plus avancé, mais dans le sexe masculin les valeurs sont beaucoup plus élevées que dans le sexe féminin.

CONCLUSIONS

La séparation électrophorétique sur papier et l'expression quantitative des protéines, des glycoprotéines et des lipoprotéines des sérums de 162 sujets normaux masculins et de 131 sujets normaux féminins, âgés de 20 à 85 ans, ont permis de faire les observations suivantes :

1° *Les protéines totales* sont très constantes dans les deux sexes jusqu'à 60 ans, puis leur moyenne s'abaisse jusqu'à 85 ans, tandis que l'écart quadratique moyen s'élève, preuve d'une protéinémie beaucoup plus irrégulière.

2° *Les albumines* chez l'homme diminuent progressivement de 20 à 85 ans, avec une chûte plus rapide entre 60 et 85 ans. Chez la femme, la variation est de même sens avec des valeurs régulièrement inférieures.

3° *Les globulines* β *et* γ augmentent légèrement avec l'âge.

4° *L'écart quadratique moyen,* à peu près constant pour toutes les fractions, s'accroît pour les albumines et les globulines γ dans le sexe féminin.

5° *Le coefficient glycoprotéique* varie peu chez l'homme; chez la femme il augmente nettement entre

40 et 50 ans, en relation probable avec la ménopause. Cette variation est due à l'augmentation des fractions albumine α_1 et α_2. Les fractions γ sont toujours élevées et stables chez la femme.

6° Chez l'homme, *les fractions glycoprotéiques* α *et* β permettent de distinguer deux types :

— l'un à prédominance α_2, plus fréquent chez l'individu jeune;

— l'autre à prédominance β, plus fréquent chez l'individu plus âgé.

7° *Les glycoprotéines* β, toujours plus élevées chez l'homme, sont peut-être le reflet de l'imprégnation alcoolique de ce sexe.

8° *Les lipoprotéines* considérées dans leur totalité ou leurs fractions sont très variables. Le coefficient lipoprotéique moyen atteint son maximum entre 40 et 50 ans avec une augmentation plus accusée chez la femme en rapport avec la ménopause. Les écarts quadratiques moyens sont élevés.

9° *La fraction lipoprotéique* β est seule responsable des variations individuelles. Dans le sexe masculin, le maximum de variations se trouve entre 25 et 30 ans, dans le sexe féminin entre 40 et 50 ans.

10° Il n'y a pas de corrélation nette entre l'embonpoint et l'augmentation des lipoprotéines.

11° L'étude 28 sérums de 6 sujets à jeun et en cours de *digestion* montre des variations négligeables pour les protéines, les glycoprotéines et les lipoprotéines α_1. Les lipoprotéines β s'étalent et leur concentration tend à diminuer. Les lipoprotéines peu mobiles augmentent très nettement pendant la période digestive, la variation est proportionnelle à la richesse de l'alimentation en lipides.

BIBLIOGRAPHIE

A) CONSULTEE DIRECTEMENT

1. ANTWEILER H. J. — Die Quantitative Elektrophorese in der Medizin. Springer, Berlin, 1952.
2. ARDRY R. — Exploration clinique des protéines sériques. *Ann. Biol. Clin.,* 1952, *10 :* 575-601.
3. BENHAMOU Ed., POLONOWSKI J. — Electrophorèse sur papier et applications cliniques. *Ann. Biol. Clin.,* 1953, *11 :* 81.
4. BENHAMOU Ed., PUGLIESE J. — L'électrophorèse et ses applications cliniques. *Presse Médicale,* 1948, *58 :* 689-690.
5. BERGER J. A. — Contribution à l'étude des protéides du sérum sanguin. *Thèse pharmacie Toulouse,* 1953.
6. BERKES I., KARAS V. — Fibrinogenbestimmung mittels der Papier-elektrophorese. *Biochem. Z,* 1953, *324 :* 499-501.
7. BJORNESJÖ K. B. — Staining of protein-bound serum polysaccharides in electrophoresis strips. *The Scand. J. of Clin. Lab. Inv.,* 1955, *7 :* 153--159.
8. BRAUN-FALCO O., WEBER G., THAESLER U. — Zur Frage der Verhalten proteingebundener Polysaccharide im serum bei dermatosen. *Arch. Dermatol. Syph. Dtsch,* 1954, *198 :* 585-594.
9. CARAVEL C., DUCLOZ J. et GROULADE J. — Dispositif d'alimentation à courant constant pour électrophorèse sur papier. *Ann. Inst. Past., 87 :* 227-229.

10. CHARVILLAT L., BLANC P., CREYSSEL R., CHARVET F. — Electrophorèse des protéines du sérum au cours de la gestation normale. *La Revue Lyonnaise de Médecine,* 1955, *4 :* 487-492.

11. CONSDEN R., STANIER W. N. — A simple paper electrophoresis apparatus. *Nature,* 1952, 170.

12. CRAPLET C. — Statistique appliquée à la biologie. Vigot, Paris, 1954.

13. CREYSSEL R., CHARVILLAT L. — L'électrophorèse en clinique quotidienne. *Journ. de Méd. et de Chir. Prat.,* 1955, *126 :* 481-494.

14. DELMON G., BLANQUET P., BABIN R. — La microélectrophorèse sur papier chez les cancéreux. *Ann. Biol. Clin.,* 1954, *12 :* 46-52.

15. DOLE V. P. — The electrophoretic patterns of normal plasma. *J. Clin. Inv.,* 1944, *23 :* 708.

16. DREVON B., DONIKIAN R. — Précision obtenue dans l'électrophorèse sur papier des protéines sériques (Etude statistique). *Bull. Soc. Chim. Biol.,* 1955, *37 :* 605-612.

17. DREVON B., PIGEAUD H. et DONIKIAN R. — Sur les protéines du sérum de nouveau-né (étude électrophorétique). *Bull. Soc. Chim. Biol.,* 1955, *37 :* 613-617.

18. DREVON B. — Mobilités et positions des protéines au cours de l'électrophorèse sur papier. Interprétation graphique des diagrammes d'électrophorèse. *C. R. Soc. Biol.,* 1953, *147 :* 1416-1420.

19. DUCHATEAU G. — Méthodes nouvelles d'analyse biochimique et clinique. *Actualités Biochimiques* n° 4, 1946, 5-25.

20. ENSELME J., DREYFUS J.-Cl. — Semeiologie électrophorétique des protéines du plasma sanguin et de l'hémoglobine. Camugli, Lyon, 1955.

21. ENSELME J., TIGAUD J. — Comment interpréter les résultats de l'électrophorèse du sérum humain. *J. Méd. Lyon,* 1953, *34 :* 1005-1011.

22. EWERBECK E. — Zur Physiologie des Eiweisses in Antweiller (1).

23. FASOLI A. — Elettroforesi su carta e in microcella delle proteine seriche confronto dei risultati dei due metodi. *Boll. Soc. italiana Biol. sper.,* 1952, *28 :* 601-603.

24. FASOLI A. — Electrophoresis of serum lipoproteins on Filter-paper, *Acta Med. Scand.*, 1953, *145 :* 233-235.

25. GLAZIER F. W., TAMPLIN A. R., STRISOWER B., DE LALLA O. L., GOFMAN J. W., DAWBER T. R., PHILLIPS E. — Human serum lipoproteins concentration. *J. Gerentol,* 1954, *9* : 395-403.

26. GRABAR P. — Les globulines du sérum sanguin. Masson, Paris, 1947.

27. GRABAR et P. BURTIN. — L'analyse immuno-électrophorétique. Premiers résultats obtenus avec des sérums pathologiques. *Presse Méd.*, 1955, *63 :* 804-805.

28. GRAS J. — Electroforesis en papel de las proteinas de sueros normales y patologicos. *Riv. esp. Fisiol.*, 1952, *8 :* 59-69.

29. GRASSMANN W., HANNIG K., KNEDEL M. — Uber ein Verfahren zur elektrophoretischen Bestimmung der Serumproteine auf Filtrierpapier. *Dtsch. Med. Wschr.*, 1951, *76 :* 333-336.

30. GRASSMANN W., HANNIG K. — Ein quantitatives Verfahren zur Analyse der Serum proteines durch papier elektrophorese. *Hoppe Seyler's Ztschr. f. physiolog. chem.*, 1952, *290 :* 1-27.

31. GROULADE J., JACQUELINE F. — Etude quantitative du fibrinogène par l'électrophorèse sur papier, dans les rhumatismes chroniques inflammatoires. Recherche de corrélation avec les protides sériques, les glyco et lipoprotides. *Semaine des Hôpitaux* (Archives de Biologie Médicale), 1955, *31 :* B 76-B 82.

32. GROULADE J., TIZZANI R. J., DRUFOVKA B. — Séparations des protéines par électrophorèse sur papier et application en médecine. *Annales de l'Institut Polytechnique de Grenoble,* 1954, *3 :* 79-86.

33. GROULADE J., TIZZANI R. J., DRUFOVKA B. — Etude par microélectrophorèse sur papier des protéines sériques dans les maladies du foie. *Presse Méd.*, 1954, *62 :* 1349-1351.

34. GROULADE P., GROULADE J., DRUFOVKA B. — Etude quantitative par microélectrophorèse sur papier, de sérums de chiens normaux et de sérums vieillis. *Bull. Acad. vétérinaire,* 1954, *27 :* 335-342.

35. GROULADE J. — Electrophorèse sur papier des protéines, des glycoprotéines et des lipoprotéines (Techniques). *Revue lyonnaise de Médecine* (A paraître).

36. HARTMANN L., LOVERDO A. — Electrophorèse des protéides des liquides organiques. *Concours Médical,* 1952, 2389-2396.

37. HOCH H., CHANUTIN A. — An electrophoretic study of human plasma stored at room temperature. *J. Biol. Chem.,* 1954, *209 :* 661-669.

38. JACQUELINE F., GROULADE J., DRUFOVKA B. — Etude quantitative, par électrophorèse sur papier, des glucides et des lipides cenapses aux protides sériques dans les rhumatismes chroniques inflammatoires. *Rev. du Rhumatisme,* 1954, *21 :* 566-576.

39. JACQUELINE F., GROULADE J. — Protides, glucides et lipides sériques dans les diverses formes cliniques de la spondyl arthrite ankylosante. *La Revue du Rhumatisme,* 1955, *22,* Novembre.

40. JACQUELINE F., de TRAVERSE P.-M., BESSON L. — Etudes sur la répartition des protides sériques dans les rhumatismes inflammatoires (électrophorèse sur papier). *Rev. du Rhumatisme,* 1954, *21 :* 329-339.

41. JAYLE M.-F., BOUSSIER G., BADIN J. — Electrophorèse de l'haptoglobine et de son complexe hémoglobinique. *Bull. Soc. Chim. Biol.,* 1952, *11 :* 1063-1069.

42. JAYLE M.-F., BOUSSIER G. — Isolement à l'état pur de l'haptoglobine mucoprotéine α_2 du sérum, propriétés et intérêt clinique. *Presse Médicale,* 1954, *62 :* 1752.

43. JAYLE M.-F., in LOISELEUR. — Techniques de Laboratoire, tome II. Masson, Paris, 1954.

44. KNAPP A., SIELER H. — Zur Methodik der papierelektrophorese. *Z. ges. inn. Med. Grenzgeb.,* 1953, *8 :* 741-749.

45. KOIW E., GRONWALL A. — Staining of protein bound carbohydrates after electrophoresis of serum on filter paper. *Scand. J. clin. inv.,* 1952, *4 :* 244-246.

46. KOIW E., WALLENIUS G., GRONWALL A. — L'utilisation clinique de l'électrophorèse sur papier. Comparaison avec l'électrophorèse à tube en U selon la méthode de Tiselius. *Bull. Soc. Chim. Biol.,* 1951, *33 :* 1940-1950.

47. LACOURT A., STOFFYN P., TIMMERMANS A. N. — Une microburette horizontale perfectionnée. Centre de Microchimie, Université de Bruxelles, 1947.

48. LAYANI F., BENGUI A., de MENDE S. — Etude électrophorétique et chimique des protides sériques au

cours de la P. C. E. et leur modification sur l'influence de la corticothérapie. *Sem. Hôp. Paris,* 1952, *28 :* 3321-3330.

49. LEDERER M. — Paper Electrophoresis. Elsevier, Amsterdam, 1955.

50. LISON L. — Histochimie et Cytochimie Animales. Gauthier-Villars, Paris, 1953.

51. LONGSWORTH L. G., SHEDLOWSKY R. H., Mc INNES D. A. — Electrophoretic patterns of normal and pathological human blood and plasma. *J. of Exper. Med.,* 1939, *70 :* 399.

52. LORENZINI R. — Proposta di una metodica per l'indagine elettroforetica su carta dei lipidi del siero. *Plasma,* 1954, *2 :* 541-549.

53. MACHEBŒUF M., DUBERT J.-M., REBEYROTTE P. — Microélectrophorèse sur papier avec évaporation continue du solvant (électrorhéophorèse). II. Etude théorique. Application à la mesure des mobilités électrophorétiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.,* 1953, *35 :* 346-364.

54. MACHEBŒUF M., REBEYROTTE P., DUBERT J.-M., BRUNERIE M. — Microélectrophorèse sur papier avec évaporation continue du solvant (électrorhéophorèse). *Bull. Soc. Chim. Biol.,* 1953, *35 :* 334-345.

55. MACHEBŒUF M., REBEYROTTE P., DUBERT J.-M., BRUNERIE M. — Microélectrophorèse sur papier. Expansion scientifique, Paris, 1954.

56. MACK H. C. — The plasma proteins in pregnancy. Thomas, Springfield Illinois, 1955.

57. MARTN DU PAN R., SCHEIDEGGER J. J., ROULET H. — Etude électrophorétique des protéines sériques chez le prématuré pendant les quatre premières années de sa vie. *Arch. Fr. de Péd.,* 1953, *10 :* 1013-1025.

58. MASSE L., BISERTE G. — L'électrophorèse différentielle des protéines sériques : principes, applications. *Ann. Biol. Clin.,* 1947, *5 :* 504-522.

59. MATHIEU L., VERAIN M., COLLESSON L., PERNOT C., METZ J., DEDREUX J.-J. — Le protéinogramme sérique par microélectrophorèse dans l'atherosclérose. *Sem. Hôp. Paris* (Arch. Biol. Méd.), 1955, *31 :* B 178-B 193.

60. MUNIER R. — Electrophorèse en zones sur support inerte. *Chimie analytique,* 1955, *37 :* 253-263, 283-300, 340-346.

61. NIKKILA E. — Studies on the lipid protein relationships in normal and pathological sera and the effect of heparine on serum lipoprotein's. *The Scand. J. of Cl. and Lab. Inv.*, 1953, *5 :* 1-101, suppl. 8.

62. PIEPER J., MOLINSKI H. — Zur methodik der papier elektrophorese nach Grassmann und Hannig. *Kl. Wsch.*, 1954, *32 :* 985-988.

63. PORTILLO R., ORTEGA M., ORTEGA R. — Electroforesis en sueros humanos. *Ann. Acad. Farm. Esp.*, 1953, *19 :* 327-334.

64. RAFSKY H. A., BRILL A. A., STERN K. G., COREY H. — Electrophoretic studies on the serum of normal aged individuals. *Am. J. Med. Sci.*, 1952, *224 :* 522-528.

65. RAFSTEDT S., SWAHN B. — Studies on lipids, proteins and lipoproteins in serum from Newborn Infants. *Acta Pediatrica*, 1954, *43 :* 221-234.

66. RAYNAUD R., d'ESHOUGUES J.-R., PASQUET P. — L'électrophorèse sur papier dans les syndrômes néphrotiques. *Sem. Hôp. Paris*, 1954, *30 :* 4065-4071.

67. RAYNAUD R., d'ESHOUGUES J.-R., P. PASQUET, Di GIOVANNI S. — Technique d'étude des lipoprotéines sériques au moyen de l'électrophorèse sur papier. *Ann. Biol. Clin.*, 1953, *11 :* 377-383.

68. RAYNAUD R., d'ESHOUGUES J.-R., PASQUET P. — Recherche sur le métabolisme sanguin des lipides au moyen de l'électrophorèse sur papier. *Sem. Hôp.*, 1954, *30 :* 4061-4065.

69. RAYNAUD R., d'ESHOUGUES J.-R., MINICONI P., FERRAND M., PASQUET P. et V. — Les aspects diagnostiques et les aspects thérapeutiques de l'activité rhumatismale. *Sem. Hôp. Paris*, 1954, *30 :* 4051-4066.

70. REINER M., FENICHEL R., STERN G. — Electrophoretic studies on the protein distribution in normal human serum. *Acta hæmatologica*, 1950, *3 :* 202-210.

71. RIVA G. et MARTINI V. — Erfahrungen mit der Papierelektrophorese. *Schw. Med. Wschr.*, 1953, *83 :* 73-85.

72. ROPES M. W., PERLMANN G. E., KAUFMAN D. et BAUER W. — The electrophoretic distribution of proteins in plasma in rheumatoid arthritis. *J. of Clin. Inv.*, 1954, *33 :* 311-318.

73. ROSENBERG I. N., JOUNG M. D., PROGER S. — Serum lipoproteins of normal and atherosclerotic persons. Studies by paper electrophoresis. *Am. Journal of Med.*, 1954, *16 :* 818-821.

74. ROULET A., TRINQUIER E. — Valeurs comparées de la vitesse de sédimentation de l'électrophorèse et de l'indice d'haptoglobine en pathologie. *Presse Médicale,* 1955, *63 :* 355-356.

75. SCHLEYER F. — Papierelektrophoretische Untersuchungen der Eiweissbildes von Leichenseren. *Arch. exp. Path. u. Pharmakcl.,* 1954, *221 :* 306-311.

76. SCHMIDT J., ENZINGER J., HERBST F., WARUM F. — Die Serumlipoide bei primär chronischen Polyarthritis. *Wiener klinische Wschs,* 1953, *65 :* 557-559.

77. SVENSSON H. et BELFANTI S. — Paper Electrophoresis of serum. Reproductibility and comparison with U tube electrophoresis. *Plasma,* 1954, *2 :* 503-511.

78. SWAHN B. — Studies on blood lipids. *Scand. J. Clin. Lab. Inv.,* 1953, *5 :* suppl. 9, 1-114.

79. J. TIGAUD. — Dans quelle mesure les résultats d'une électrophorèse sont-ils significatifs ? *J. de Méd. Lyon.,* 1953, *34 :* 1011-1013.

80. TISELIUS A., FLODIN P. — Zone electrophoresis. Advances in protein chemistry. *Academic Press.,* 1953.

81. TISELIUS A. — Zone electrophoresis in filter paper and other media. *Disc. Far. Soc.,* 1953, *13 :* 29-33.

82. VALMET E., SVENSSON H. — Some problems inherent in paper electrophoresis. The L K B paper electrophoresis apparatus. *Science Tools,* 1954, *1 :* 3-7.

83. WIEDEMANN E. — Recent developments in the technique of electrophoresis. *Internat. Arch. Allergy appl. immunal,* 1954, *5 :* 1-22.

84. WIEME R. J. — Migration de l'hémoglobine additionnée au sérum humain lors de l'électrophorèse sur papier. *Experientia,* 1953, *9 :* 380-381.

85 WUNDERLY Ch. — La méthode d'électrophorèse sur papier et ses limitations. Exposés annuels de Biochimie Médicale Série 14. Masson, Paris, 1952, 173-187.

86. WUNDERLY Ch. — Uber Methodische Verbesserungen der Papier-elektrophorese. *Plasma,* 1954, *2 :* 143-156.

87. WUNDERLY Ch. — Die Papier-elektrophorese. *Sauerlander,* Aarau, 1954.

B) CONSULTEE INDIRECTEMENT

88. CASPANI R. et BERNASCONI A. — *Minerva Medica*, 1952, *43 :* 1289.

89. DURRUM E. L., PAUL M. H., SMITH E. R. B. — Lipid detection in paper electrophoresis. *Science*, 1952, n° 3016 : 428-430.

90. FINE J. M. — Communication personnelle.

91. DURRUM E. L. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1950, *72 :* 2943.

92. FLYNN F. V., de MAYO P. — Microelectrophoresis of proteins on filter paper. Lancet, 1951, *261 :* 235-239.

93. GOMORI G. — The periodic acid Schiff stain. *Amer. J. Clin. Path.*, 1952, *22 :* 277.

94. HOCH H., CHANUTIN A. — Electrophoretic studies on fast moving components of human serum. *J. Biol. Chem.*, 1953, *200 :* 241-249.

95. HOTCHKISS R. D. — A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structure in fixed tissus preparations. *Arch. Biochem.*, 1948, *16 :* 131.

96. KUNKEL H. G., SLATER. — Lipoproteins patterns of serum obtained by zone electrophoresis. *J. Clin. Inv.*, 1952, *31 :* 677-684.

97. LAURENT B. — Sur la courbe des glucoprotéines du sérum humain. *Acta Hæmatologica*, 1953, *10 :* 307-315.

98. LEWIS L. A., PAGE I. H. — Electrophoretic and ultracentrifugal analysis of serum lipoprotein of nephrotic and hypertensive persons. *Circulation*, 1953, *7 :* 707-717.

99. MAN E. B., PETER J. P. — Variation of serum lipid with age. *J. Lab. Clin. Med.*, 1953, *41 :* 738-744.

100. MOORE D. H., MARTIN DU PAN R., BUXTON C. L. — An electrophoretic study of material fetal and infant sera. *Am. J. Obst. Gynec.*, 1949, *57 :* 312.

101. NORTON P. M., KUNZ H., PRATT E. L. — Electrophoretic analysis of serum proteins in premature infants. *Pediatrics*, 1952, *10 :* 527.

102. SOMMERFELT S. C. — Reproductibility with paper electrophoresis of serum proteins. *Scand. J. Clin. invest.*, 1952, *4 :* 307-312.

103. SOMMERFELT S. C. — Comments regarding the evaluation of paper electrophoresis of proteins. *Scand. J. Clin. Lab. Inv.*, 1953, *5 :* 105-106.

104. VANZETTI G., MARS G., FORMIGA--ORAZI G. — Ricerche sulle frazioni proteiche e sui polissaccaridi legati alle proteine del siero nei vecchi. *Sett. Med.*, 1951, *39 :* 623.

105. VANZETTI G., FORMIGA-ORAZI G. — Ricerche sulle frazioni proteiche e sui polisaccaridi legati alle proteine nel siero dei vecchi. *Min. Med.*, 1952, *43 :* 1052.

106. WUNDERLY Ch., PEZOLD F. A. — *Naturwischaf.*, 1952, *39 :* 493.

107. WUDERLY Ch., PILLER S. — *Klin Wschr.*, 1954, *32* · 425.

TABLE DES MATIERES

Introduction 11

I. — *Techniques :*

Principe 13
Appareillage 14
Séparation électrophorétique 15
Colorations 16
Densitométrie 19
Planimétrie 20
Morphologie des courbes 20
Ecarts expérimentaux 23
Protéines totales 24
Coefficient glyco et lipoprotéique 24
Autres techniques 25

II. — *Définition et exploitation du matériel d'étude :*

Description des échantillons 27
Choix des témoins 30
Exploitation statistique des résultats 31

III. — *Résultats :*

Protéines 35
Glycoprotéines 40
Lipoprotéines 47
Corrélations morphologiques 52

IV. — *Confrontation avec les travaux antérieurs :*

Conservation du sérum 55
Définition de l'échantillon normal 56
Variations avec l'âge 58
Variations avec le sexe 60
Gestation 60
Lipoprotéines 62
Glycoprotéines 63
Digestion 64

Conclusions 67

Vu :

Le Doyen,

H. HERMANN.

Le Président de la Thèse,

M. CROIZAT.

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 29 octobre 1955.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,

André ALLIX.

Numéro d'édition : 1125. Dépôt légal : 4e trimestre 1955.